Ein Beitrag zur Pharmakologie der Chlorogensäure.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

medizinischen Fakultät

der

Friedrich-Alexander-Universität Erlangen.

Vorgelegt von

Joachim F. G. Meiss

aus Wiesbaden.

Tag der mündlichen Prüfung: 10. Februar 1939.

Erlangen 1939

Buchdruckerei Adolf Remppis, Marbach a. N.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät.

Referent: Herr Prof. Dr. Schübel.
Dekan: Herr Prof. Dr. Greving.

Meiner Mutter
in Dankbarkeit!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153708_0179

Historischer Ueberblick bis zur endgültig festgelegten Struktur der Chlorogensäure.

Wie es das Schicksal zahlreicher psychisch oder physisch deutlich stimulierender Pflanzenprodukte war, sehr frühzeitig in der Geschichte der Menschheit instinktiv als solche herausgefunden und zu begehrten Genußmitteln gemacht zu werden, so war es auch beim Samen des Kaffeebaumes, dessen Wirkung sicherlich bereits seit Jahrtausenden bekannt ist. Die erste schriftliche Bestätigung dieser Tatsache stammt erst aus dem Jahr 875 n. Chr. aus Persien. Von dort nach Arabien und Aegypten sich ausbreitend treffen wir den Gebrauch des Kaffees 1517 in Konstantinopel, von wo aus er Europa eroberte und auf seinem Siegeszug über Jtalien (1645), England (1652) und Frankreich (1659) im Jahre 1679 auch deutschen Boden betrat, als in diesem Jahr die erste Kaffeestube Deutschlands in Hamburg von einem englischen Kaufmann eröffnet wurde. Es dauerte noch ein Jahrhundert, bis der Kaffee ein europäisches Volksgetränk geworden war.

So ist es nicht zu verwundern, daß einem solch verbreiteten Genußmittel im aufkommenden Zeitalter der exakten und systematischen chemischen Analyse natürlich besondere Aufmerksamkeit zugewandt wurde. Forscher, die sich besonders um die Aufklärung der Zusammensetzung des Kaffees verdient gemacht haben, wie Schrader (Berlin 1762 geb.), Séguin (Mitarbeiter Lavoisiers 1814), Cadet de Gassicourt (Paris 1780), Brugnatelli (1815), C. H. Pfaff (Kiel 1820), Robiquet (Paris 1820) und Rochleder sollen erwähnt werden. Insbesondere aber Runge, dem es 1820 gelang, den hauptsächlich wirksamen Bestandteil des Kaffees, das „Kaffein" zu entdecken und Payen (Paris 1785—1871), der 1849 der Entdecker der Chlorogensäure wurde, die ihm in Form des Kalium-Coffein-Salzes als komplexe Verbindung erstmalig entgegentrat, sind hier zu nennen. Letzterer wählte deswegen

den Namen „Chlorogensäure“ für die gefundene Substanz, weil sie sich in Gegenwart von NH_3 bei Luftzutritt grün färbte.

Eine weitere, intensivere Beschäftigung mit dieser Substanz blieb dann lange Zeit aus, da man glaubte, im Coffein den allein wirksamen Bestandteil des Kaffees gefunden zu haben. In einem 1882 von Wittstein herausgegebenen Handwörterbuch der Pharmakognosie ist die Kaffee-Analyse folgendermaßen angegeben:

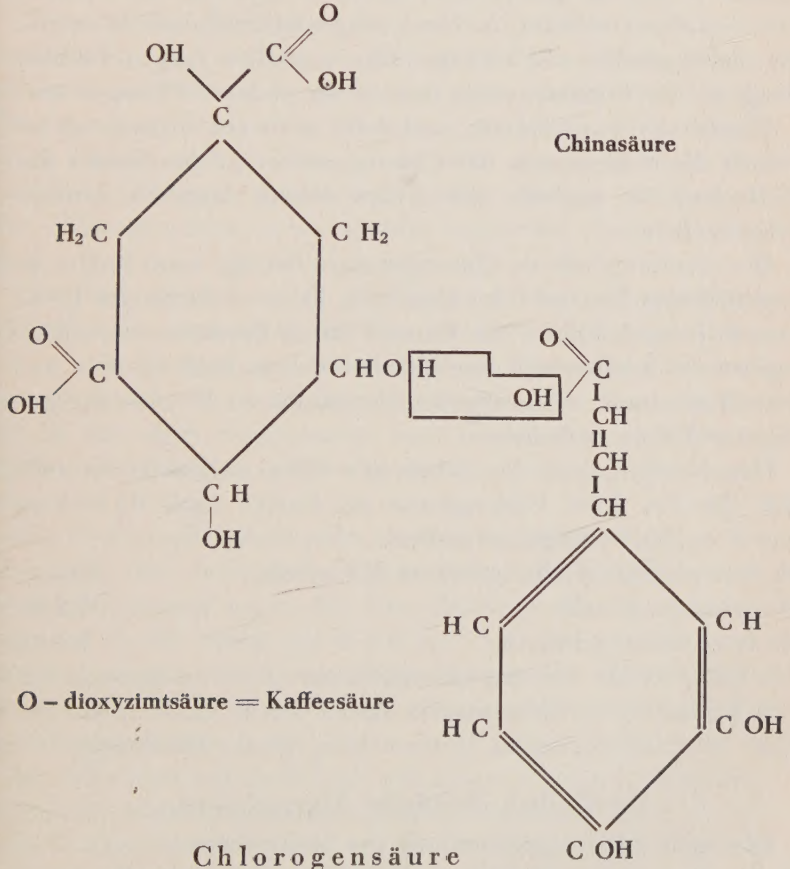
1,0 eigenthümliches, flüchtiges Alkaloid „Kaffein“.
10,0 Proteinsubstanz.
12,0 öliges Fett.
15,0 Zucker und Gummi.
3-5 eigenthümliche, eisengrünende Gerbsäure (Kaffeegerbsäure, Chlorogensäure).
3,5 Mineralstoffe und etwas Chinasäure, Spuren ätherischen Oeles.

Erst 1908 veröffentlichte Gorter eine Reihe von Untersuchungsergebnissen mit der Chlorogensäure, in denen er bewies, daß die noch 1903 von Griebel vertretene Ansicht, daß es sich bei der bisher bekannten Kaffeegerbsäure um einen im chemischen Sinne einheitlichen Körper handele, falsch ist, und daß diese sich aus Chlorogensäure, Coffalsäure und anderen Substanzen zusammensetzt. Der Hauptteil der Chlorogensäure ist komplex an Kalium-Coffein gebunden. Aus dieser Verbindung läßt sich das Coffein in trockenem Zustande mit Chloroform nicht quantitativ ausschütteln, wohl aber in wäßriger Lösung. Diese Tatsache der Dissoziation des Komplexsalzes in wäßriger Lösung ließ sich durch meine später zu besprechenden Versuche an überlebenden Organen auch biologisch nachweisen und erhärten. In derselben Arbeit teilte Gorter ferner mit, daß durch Alkalispaltung der Chlorogensäure Chinasäure und Kaffeesäure entsteht. Durch Säurespaltung werden 70 % der Chlorogensäure unter CO_2-Entwicklung zersetzt. Die übrigen 30% zerfallen wiederum in Chinasäure und Kaffeesäure.

1911 veröffentlichte Gorter eine Strukturformel der Chlorogensäure, die aber nicht der wirklichen Formel, wie sie später festgestellt wurde, entsprach.

1920 gibt Karl Freudenberg an, daß Chlorogensäure außer durch Alkali und Säuren auch durch Schimmelpilze und Tannase in äquimolekulare Mengen zerlegt wird.

Erst 1932 gelingt es H. O. L. Fischer und Gerda Dangschat die Konstitution der Chlorogensäure endgültig aufzuklären. Es greift dabei esterartig das $-C\overset{=O}{\underset{-OH}{}}$ der Kaffeesäure an das OH des 3 C-Atoms der Chinasäure an, so daß folgende Konstitutionsformel besteht:



Chlorogensäure

Bruttoformel: $C_{16}\ H_{18}\ O_9 + \frac{1}{2} H_2O$.

Vorkommen der Chlorogensäure.

Bald nachdem der Begriff „Kaffee-Gerbsäure" aufgegeben werden mußte und als ihr vorwiegender Bestandteil die Chlorogensäure erkannt worden war, konnte in vielen Arbeiten gezeigt werden, daß dieser Stoff nicht nur im Kaffee vorhanden ist, sondern daß die Igasursäure aus Strychnossamen hergestellt, die Helianthsäure der Sonnenblumensamen, die Guaranagerbsäure und viele andere mit der Chlorogensäure identisch sind. Des weiteren kommt diese Substanz außer in den eben genannten Strychnos nux vomica und Helianthuus annuus in Copsia flavida, dem Milchsaft von Castilloa elastica und von Ficus elastica, in Ilex paraguyensis, Cainca-Wurzeln, im Tabakextrakt als Kalium-Chlorogensäure-Terpen-Verbindung, in der Rohbaumwolle und vielen anderen Pflanzen vor.

Quantitativ am stärksten und wohl auch am wichtigsten ist jedoch das Vorkommen der Chlorogensäure in den Samen des Kaffeebaumes, weshalb hier einige nähere Angaben darüber folgen sollen.

Der Gesamtgehalt an Chlorogensäure beträgt beim Kaffee in ungeröstetem Zustand 8 bis über 10%. Er wird durch den Röstprozeß je nach Stärke des Röstens durch Zerstören der Chlorogensäure herabgesetzt; sie ist aber immer noch zu 4 %, bei besonders „hart" schmeckenden Sorten bis zu 10 % in der gerösteten Bohne enthalten.

Den Gesamtgehalt der Säure mit 100 % angesetzt, verteilt sich die Art ihres Vorkommens im Kaffee nach Plücker und Keilholz folgendermaßen:

als Komplexsalz (Chlorogensäure-K-Coffein)	85 %
als primäres K-salz	7,5 %
als freie Chlorogensäure	7,5 %.

Als Komplexsalz war die Chlorogensäure Payen ja auch zuerst bekannt geworden, und in dieser Form verdient sie bei einer pharmakologischen Untersuchung große Beachtung.

Physikalisch-chemische Eigenschaften.

Die reine Chlorogensäure mit der Bruttoformel $C_{16}H_{18}O_9 + \frac{1}{2}H_2O$ besitzt ein Mol.-Gew. von $354 + 9 = 363$.

Die quantitative Analyse ergibt:
54,2 % C, 5,1 % H, 40,7 % O.
Die Substanz ist optisch aktiv. $[\alpha]_D = -33{,}1^0$.
Der Schmelzpunkt liegt bei 207°.

Ihre Löslichkeit in Wasser ist gering. Das weiß-graue, amorphe Pulver löst sich in Wasser bei Zimmertemperatur knapp bis zu 4 %. Erwärmen steigert die Löslichkeit. Erkalten läßt die Substanz wieder ausfallen.

Verdünnte Gelatinelösung wird nicht gefällt, wohl aber bei Gegenwart von NaCl oder in konzentrierter Lösung.

Eisenchlorid gibt mit Chlorogensäurelösung eine grüne Farbe.

Diese beiden Reaktionen haben zur Einreihung der Chlorogensäure in die Gruppe der Gerbstoffe geführt. Erstere zu einer Einordnung in die von Dekker aufgestellte Gruppe der unechten Gerbstoffe, worunter er solche verstand, die keine Fällung mit Gelatine geben, zum mindesten nicht ohne weiteres, und wozu Substanzen gezählt werden, die eng mit der Chlorogensäure verwandt oder sogar mit dieser identisch sind.

Die Farbreaktion wurde gleichfalls zu einer Gerbstoffklassifikation herangezogen. Stoffe, die mit $FeCl_3$ eine blauschwarze Farbe ergeben, wurden dabei als Pyrogallol-Gerbstoffe von Brenzkatechin enthaltenden Gerbstoffen unterschieden, die in der oben angegebenen Reaktion eine grüne Färbung geben. Zu letzteren gehört demnach auch die Chlorogensäure.

Die H-Jonen-Konzentration ist eine verhältnismäßig große. Eine mit der Indikatoren-Dauer-Reihe durchgeführte p_H-Wert-Bestimmung ergab für eine Chlorogensäure-Konzentration von 1:300 einen p_H-Wert von 3,2. Bei der Beurteilung der pharmakologischen Versuchsergebnisse ist diese Tatsache von besonderer Bedeutung und wurde dementsprechend auch berücksichtigt.

Im folgenden soll noch kurz auf einige weitere Farbenreaktionen der Chlorogensäure eingegangen werden, die z. T. bereits K. Gorter in seiner ersten Veröffentlichung über die Chlorogensäure im Jahre 1908 beschreibt, und wie sie auch bei

eigenen Trypsinverdauungsversuchen besonders stark in Erscheinung traten.

Dabei tritt eine Grünfärbung der Chlorogensäurelösung auf, die auf die Anwesenheit und Einwirkung von NH_3 zurückzuführen ist. Neben CO_2 wird bei der Eiweißverdauung ja auch Ammoniak gebildet. Die Intensität der Grünfärbung, die vom schwarz-grün bis zu den Pastelltönen wechselt, kann dabei direkt als Indikator für die bereits erreichte Stärke der Verdauung dienen, gleichen Chlorogensäuregehalt vorausgesetzt.

Außer NH_3 vermag auch der Sauerstoff der Luft schon eine Oxydation der Säure vorzunehmen, eine Tatsache, die dem „Vergrünen" des Dekoktes chlorogensäurehaltiger Pflanzen zu Grunde liegt. Pflanzendekokte, die keine Chlorogensäure enthalten, zeigen dieses Phänomen nicht.

Gelbfärbung tritt bei Alkalisierung auf, z. B. bei Zusatz von NaOH, KOH und zu Beginn der Einwirkung von NH_3.

Darstellung der Chlorogensäure.

Die gebräuchlichste Darstellung der Chlorogensäure geht nach folgendem Prinzip vor sich:

Grüne, sorgfältig gepulverte Kaffeebohnen werden mit H_2O bei Zimmertemperatur extrahiert. Durch Dialysieren und nachfolgendes Einengen des Dialysates im Vacuum fallen die Chlorogensäure-Kalium-Coffein-Krystalle aus, die in wäßriger Lösung mit Chloroform ausgeschüttelt werden, um das Coffein zu entfernen. Nachfolgender Zusatz von H_2SO_4 setzt Chlorogensäure in Freiheit.

Chlorogensäure-Verbindungen.

Durch den hohen Säure-p_H-Wert der Chlorogensäure war es nötig, denselben auf neutrale Werte herabzusetzen, um evtl. vorhandene Reaktionen „chlorogensäurespezifischer" Natur feststellen zu können. Teils wurde dazu der Weg der Pufferung begangen, teils wurde von vornherein mit einer neutralen Lösung gearbeitet durch Herstellen des chlorogensauren Natriumsalzes: $C_{16}\ H_{17}\ O_9\ Na$, indem äquivalente

Mengen von Chlorogensäure und Soda zur Reaktion gebracht wurden.

Die physikalisch-chemischen und pharmakologischen Eigenschaften des Coffeins.

In die Untersuchungen wurde weiterhin reines Coffein mit einbezogen, da die Hauptmenge der zu untersuchenden Chlorogensäure im Kaffee an diese Substanz komplex gebunden vorkommt und zu einer Analyse und Beurteilung der Komplexsalzwirkung die Vergleichsmöglichkeit mit der reinen Coffeinwirkung gegeben sein mußte.

Coffein ist im Komplexsalz, wie eine diesbezügliche Analyse ergab, zu 27 % enthalten. 65 % entfallen auf die Chlorogensäure, die restlichen 8 % auf das Kalium.

Im folgenden seien nur kurz die wichtigsten Eigenschaften des 1,3,7 trimethyl — 2,6 dioxypurins aufgeführt.

Die langen weißen, seidenglänzenden Kristallnadeln des Coffein schmelzen bei 235 ° und lösen sich im Verhältnis 1 : 80 in kaltem, zu einem wesentlich höheren Prozentsatz in heißem Wasser. Die Lösungen reagieren neutral. An Salzen sei besonders eine wichtige Verbindung erwähnt, die auch zu Versuchen in dieser Arbeit mit herangezogen wurde: Coffein.-Na-salicylicum, das eine nur lockere Verbindung von Coffein mit Na-salicyl. darstellt mit einem Coff. pur.-Gehalt von 45 %.

Von Coffeinwirkungen auf die lebende Substanz sei erwähnt, daß lokale Reizerscheinungen bei Injektionen fehlen, desgl. wird die peptische und tryptische Verdauung nicht beeinflußt und keine Eiweißfällung hervorgerufen. Die Erregung des Nervensystems wirkt sich bei warmblütigen Tieren mehr an den niederen Teilen desselben aus, in Form von gesteigerter Reflexerregbarkeit, Gliederzittern, Muskelstarre, beschleunigter Atmung und Krämpfen zentralen Ursprungs. Bei Kaltblütern tritt zu dieser zentral bedingten Muskelstarre und von dieser nicht immer leicht zu trennen, eine solche durch direkte Coffeinwirkung auf den Muskel auf. Dabei kommt es zu einer Gerinnung des Myosins, so daß die sich verkürzende Muskelfibrille undurchsichtig trüb wird. Dies ist besonders gut am

isolierten m. gastrocnemius des Frosches nachweisbar. Auf die Magen- und Darm-Muskulatur wirkt Coffein erregend. Das isolierte Froschherz zeigt eine Erhöhung der absoluten Kraft, bei starken Konzentrationen Herzschwäche und Arrhythmien bei gleichbleibender Frequenz in reversiblem Geschehen.

Bei den verschiedenen Versuchsreihen wurde, soweit nötig, die jeweilige Coffeinwirkung mit untersucht und gewürdigt, so daß an diesen Stellen auf Einzelheiten näher eingegangen ist.

Die pharmakodynamischen Eigenschaften der Chlorogensäure und ihrer Verbindungen.

Nachdem in der oben beschriebenen Weise Konstitutionsformel und physikalisch-chemisches Verhalten der Chlorogensäure erkannt worden waren, ruhten die Bemühungen zur Erkenntnis des physiologischen Wesens dieser Substanz, besonders was ihr pharmakologisches Verhalten anlangte, fast ganz. Erst vor einigen Jahren wurde versucht, Klärung zu schaffen.

Die Anregung hierzu gab vor allem die Kaffeeindustrie, die behauptete, durch Herstellung eines chlorogensäurefreien Kaffees ein wesentlich weniger gesundheitsschädliches, bekömmlicheres Produkt auf den Markt gebracht zu haben. Die amerikanischen, englischen und schwedischen Patente neben den in größerer Anzahl ausgearbeiteten deutschen Verfahren zur Zerstörung resp. Spaltung und anschließenden Entfernung der Chlorogensäure aus dem Kaffee beweisen das Interesse, das diesem Problem entgegengebracht wurde.

Anschließend seien die einzelnen untereinander sowohl im Untersuchungsergebnis als auch in dessen Auswertung z. T. sehr differenten Resultate, soweit sie hier von Bedeutung sind, kurz wiedergegeben.

Kochmann untersuchte die Wirkung der Chlorogensäure in einer jeweils 7 % Konzentration und stellte starke Eiweißfällung im Hammelblutserum und eine Trübung mit Nekrose am quergestreiften Muskel in vivo fest. Er führte diese Erscheinungen allein auf Säurewirkung, nicht auf eine spezifische Giftwirkung zurück.

Toxizitätsversuche mit 70 mg / 20 g Maus ergaben Exi-

tus nur bei intraperitonealer Verabfolgung (Shoc- und Aetzwirkung), während s. c. und perorale Gaben ohne Effekt blieben. Das neutrale Na-chlorogenat blieb bei allen Applikationsarten ohne schädliche Wirkung, während das Komplexsalz jeweils nur die Schädigungen setzte, die dem jeweiligen Coffeingehalt entsprachen.

Kochmann schließt eine Giftwirkung der Chlorogensäure im Kaffee sowohl nach Menge und Konzentration bei ihrem dortigen Vorkommen, als auch nach ihren geringen unspezifischen Veränderungen an der lebenden Substanz aus.

Ebinger und Wedekind hingegen sprechen sich, an Hand ausgedehnter klinischer Erfahrung, gegen die Chlorogensäure aus und ziehen den angeblich „chlorogensäurefreien" Kaffee bei ihren Herz-, Magen-, Darm- und Gallekranken vor.

Seel wies nach, daß der eben erwähnte Kaffee nicht chlorogensäurefrei ist, wohl aber eine durch Abbau veränderte und in ihren zellreizenden Eigenschaften abgeschwächte Chlorogensäure enthalte.

Von seinen genaueren Untersuchungen zur Aufklärung der Chlorogensäurewirkung seien folgende Ergebnisse aufgeführt:

Eine 1 % Erythrozytenaufschwemmung ergab bei Zusatz von

Chlorogensäure	1:1000	in 1 Std.	Hämolyse	
	1:5000	„ 24	„	„
Komplexsalz	1:250	„ 24	„	„
Na-chlorogenat		keine		„

Untersuchungen am Froschherz mit Chlorogensäure ergaben:

Chlorogensäure 1/10 mg	setzte die Hubhöhe des Ventrikels um ungefähr 10 % herab.
1 mg	verminderte die systolische Kraft um ungefähr 80—90 %. Reizleitungsstörungen. Das diastolische Fassungsvermögen des Ventrikels wurde um ungefähr 10 % verringert.
10 mg	sofortiger diastolischer Herzstillstand, der selbst nach mehrmaligem Auswaschen irreversibel ist.

chlorogensäures Na	1/10 mg	ohne Effekt.
	2/10 „	Pulsverlangsamung, geringe Arrhythmie. Gruppenbildung.
	5/10 „	Pulsverlangsamung, Verminderung der systolischen Kraft.
	1 mg	Abnahme der systolischen Kraft um 40—50 %.
	10 „	Abnahme um 80—90 %. Wirkung gleich der eines mg Chlorogensäure.
Komplexsalz	1/10 mg	Arrhythmie. Gruppenbildung. Verlangsamung der Schlagfolge.
	5/10 „	Herabsetzung der systolischen Kraft um 10—20 %.
	1 mg	derselbe Effekt.
	3 „	Verminderung der Systole um 30—50 %, der Diastole um 10—20 %. Gruppenbildung. Arrhythmie.
	10 „	Schlecht reversibler diastol. Stillstand.

An Darm und Uterus ließ Chlorogensäure selbst in Dosen von bis zu 2 g keine charakteristische Beeinflussung erkennen, außer einer gelegentlichen Muskeltonusverstärkung.

Letale Dosen wurden für die Maus bei s. c.-Gaben mit der Chlorogensäure-Kalium-Coffein-Verbindung bei 50 mg / 20 g Tier und mit dem chlorogensauren Na bei 60—70 mg / 20 g Tier festgestellt.

Somit wurden hier für sämtliche, auch die neutralisierten Stoffe pharmakodynamische Eigenschaften festgestellt, die jeweils auf das Gesamtmolekül zu beziehen sind. Das gleichzeitige Auftreten von Säure ändert die stoffspezifischen Eigenschaften lediglich quantitativ, aber nicht qualitativ in ihrer Wirkung.

Disposition.

I. Der Einfluß von Chlorogensäure und Komplexsalz auf gewaschene Blutzellen von Rind, Kalb und Schwein.

II. Der Einfluß von Chlorogensäure und Komplexsalz auf das Blutserum von Rind, Kalb und Schwein.

III. Die Beeinflussung der peptischen und tryptischen Verdauung durch Chlorogensäure und Komplexsalz.

IV. Die Beeinflussung der Hefegärung durch Chlorogensäure und Komplexsalz.

V. Die Wirkung von Coffein.pur., Komplexsalz, Coffein-Na-salicylic. und Chlorogensäure auf den Froschmuskel.

VI. Die Wirkung von Chlorogensäure und gepufferter Chlorogensäure auf die Rattenschwanzsehne im Vergleich mit Aqua plumbi.

VII. Die Wirkung von Coff.pur., Komplexsalz, Chlorogensäure und chlorogensaurem Na auf das isolierte Froschherz.

VIII. Die Wirkung von Coff.pur., Komplexsalz, Chlorogensäure und chlorogensaurem Na auf den isolierten Darm und Uterus des Kaninchens.

IX. Durchströmungsversuche mit Komplexsalz und Chlorogensäure am Wasserfrosch nach Laewen-Trendelenburg.

X. Der Einfluß von freier Chlorogensäure auf die Resorptionsgeschwindigkeit von Coffein an der Maus.

I. Der Einfluß von Chlorogensäure und Komplexsalz auf gewaschene Blutzellen von Rind, Kalb und Schwein.

a) Rinderblutzellen.

Bei dieser, wie auch bei den beiden folgenden Versuchsreihen wurde jeweils mit einer 5 % Blutkörperchen-Aufschwemmung gearbeitet, die nach Abpipettieren des Serums und dreimaligem Auswaschen mit 0,9 % NaCl-Lösung hergestellt wurde.

Der Versuch wurde so gestaltet, daß 1 ccm der Aufschwemmung zu jeweils 4 ccm einer 0,9 % NaCl-Lösung gegeben wurde, die in fallenden Konzentrationsreihen (1 : 50—1 : 500 000) Chlorogensäure bzw. Komplexsalz enthielt.

Bei den Untersuchungen über die Komplexsalzwirkung auf die gewaschenen Blutzellen wurde so vorgegangen, daß die verwendeten Konzentrationen sich auf die Chlorogensäure, nicht auf das Komplexsalz bezogen, das ja nach den obigen Angaben 65 % Chlorogensäure enthält und dessen Menge demnach in den Versuchen das 1,4 fache der Chlorogensäuremenge beträgt, die im Chlorogensäureversuch in Anwendung kam. Die bei diesen Versuchen zur Beobachtung gelangten Veränderungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt:
(Siehe Tabelle 1.)

Es zeigte sich also in diesem Versuch, daß die Chlorogensäure, bis zu einem gewissen Grad abhängig von der Dauer der Einwirkung, an den gewaschenen Blutzellen des Rindes bis zu einer Konzentration von 1 : 1000 Veränderungen setzt, die bei den stärkeren Konzentrationen zu Eiweißveränderung mit Sedimentbildung führt. Daneben erfolgt eine Umwandlung des roten Blutfarbstoffes in einen braunen, während sie bei geringeren Konzentrationen von 1 : 500 und 1 : 1000 nur eine Blutfarbstoffveränderung macht, bei gleichzeitig auftretender Haemolyse. Die höheren Verdünnungen setzen keinerlei Veränderungen im Vergleich mit dem gleichzeitig angesetzten Kontrollversuch.

Die nähere Untersuchung dieses durch Einwirkung von Chlorogensäure in höheren Konzentrationen entstandenen braunen Umwandlungsproduktes des roten Blutfarbstoffes er-

gab, daß es sich hierbei um Methaemoglobin handelt. Durch spektralanalytischen Vergleich mit dem Ferricyankalium-Methaemoglobin konnte die Identität der auftretenden Absorptionsstreifen in Rot und Grün festgestellt werden. Diese Umwandlung des Haemoglobins in Methaemoglobin ist wohl auf die sauren Eigenschaften der Chlorogensäure und der anwesenden beiden OH-Gruppen zurückzuführen.

Entsprechend den eben beschriebenen Versuchen wurden unter den gleichen Bedingungen die Einwirkungen von Brenzcatechin (vgl. Vorhandensein des Brenzcatechinmoleküls in der Chlorogensäure!), Resorcin und Hydrochinon auf die Blutkörperchen untersucht.

Brenzcatechin:

1:50 verursacht Haemolyse und Methaemoglobinbildung. Stärkere Verdünnungen wirken nur Methaemoglobin bildend, und zwar bis zur Konzentration 1:2500. Die Veränderungen treten im Vergleich mit der Chlorogensäure langsam auf und erreichen bei den jeweiligen Verdünnungen nicht den hohen Grad der Intensität wie bei jener.

Beginn der Veränderungen nach 2 Minuten.

Resorcin:

1:50 erzeugt Haemolyse. Die geringeren Konzentrationen lassen die Blutkörperchen auch bei langdauernder Einwirkung unbeeinflußt.

Beginn der Veränderung nach 1 Stunde.

Hydrochinon:

1:50 und 1:100 wirkt Haemolyse- und Methaemoglobinbildend. Stärkere Verdünnungen bis 1:2500 lassen nur Methaemoglobin entstehen.

Beginn der Veränderungen nach 13 Minuten.

Der Nachweis der Methaemoglobinbildung wurde jeweils spektroskopisch geführt, indem die Substanz mit künstlichem Ferricyankali-Methaemoglobin verglichen wurde. Zum Unterschied von saurem Haematin, das ein sehr ähnliches Absorptionsspectrum besitzt, wurde die Lösung alkalisiert und mit Ammoniumsulfid versetzt, wodurch das Methaemoglobin zu

Haemoglobin reduziert wurde. Saures Haematin würde dabei in Haemochromogen verwandelt. Beide Substanzen sind spectroscopisch leicht zu unterscheiden.

Bei gleichzeitiger Haemolyse waren im Spectrum neben den Methaemoglobinabsorptionsstreifen diejenigen des Oxyhaemoglobins zu sehen.

Betreffs Einwirkung der Dioxybenzole auf Blutzellen siehe Heubner W., Arch. f. exp. Path. und Pharm. 72. 2 3 9, 1913: „Löst man kleine Mengen von Hydrochinon oder Brenzcatechin im Blut, so findet man stets in kurzer Zeit Methaemoglobin; Resorcinzusatz wirkt nicht, selbst nach viel längerer Zeit."

Die Einwirkung des Komplexsalzes auf die gewaschenen Rinderblutkörperchen, wobei der Chlorogensäuregehalt, wie bereits erwähnt, der gleiche war, wie bei dem vorangegangenen Chlorogensäureversuch mit Konzentrationen von 1 : 50 bis 1 : 500 000, führte nicht zu Methaemoglobinbildung.

Es wurden auch nach einer 24stündigen Beobachtungszeit keinerlei Veränderungen im Vergleich mit dem gleichzeitig angesetzten Kontrollversuch festgestellt.

Aequivalente Mengen der in diesem Fall komplex gebundenen Chlorogensäure waren also nicht im Stande, die sonst von ihr gesetzten Veränderungen hier vorzubringen.

b) Kalbsblutzellen.

Die in der gleichen Weise vorbehandelten und aufgeschwemmten Kalbsblutkörperchen wurden in der eben geschilderten Versuchsanordnung in gleicher Weise untersucht, wobei sich in allen Punkten, in Bezug auf Chlorogensäure- und auf Komplexsalz-Wirkung die gleichen Resultate zeigten.

c) Schweineblutzellen.

Auch Schweineblutkörperchen zeigten die gleiche Veränderung durch Einwirkung von Chlorogensäure in Konzentrationen von 1 : 50 bis 1 : 500 000 und keinerlei Reaktion bei Zugabe zu aequivalenten Verdünnungen des Komplexsalzes.

Sämtliche Versuche wurden in denselben Anordnungen wiederholt und zeitigten stets dieselben Resultate.

II. Der Einfluß von Chlorogensäure und Komplexsalz auf das Blutserum von Rind, Kalb und Schwein.

a) Rinderserum.

Bei diesem wie bei den folgenden Serumversuchen wurde mit unverdünntem, nach dem Zentrifugieren abpipettiertem Serum gearbeitet. Bei den einzelnen Versuchen der Versuchsreihen wurden stets jeweils 0,5 ccm einer 0,9 % NaCl-Lösung, die die entsprechende Konzentration des zu untersuchenden Stoffes enthielt, langsam tropfenweise mit 0,5 ccm Serum versetzt. Es kamen Chlorogensäurekonzentrationen von 1:50 bis 1:500 000 zur Verwendung. Die dabei gemachten Beobachtungen sind in der folgenden Tabelle aufgezeichnet. (S. Tab. 2.)

Es zeigt sich also, daß durch Chlorogensäure in Konzentrationen von 1:50 bis 1:100 eine irreversible Eiweißfällung im Serum des Rinderblutes stattfindet, daß die Konzentration 1:250 eine reversible Eiweißfällung bewerkstelligt und daß alle geringeren Konzentrationen, was die Fällung von Eiweiß anlangt, ohne jeden Effekt vertragen werden.

Diese gerade noch eiweißfällende Konzentration der Chlorogensäure von 1:250 ist es auch, die bei den vorhergegangenen Versuchen an den gewaschenen Blutzellen durch Fällung noch den Bodensatz lieferte.

Der an diesen angeschlossene Versuch, der mit Komplexsalz, aber äquivalentem Chlorogensäuregehalt wie im vorangegangenen Versuch, ausgeführt wurde, zeigte in sämtlichen Konzentrationen von 1:50 bis 1:500 000 keinerlei Veränderung gegenüber dem nur mit 0,9 % NaCl-Lösung angesetzten Kontrollversuch, weder während des Zugebens des Serums, noch im Endeffekt.

Also auch hier ist analog wie bei den Blutzellen die Chlorogensäurewirkung durch die komplexe Bindung aufgehoben bei gleichzeitiger Unwirksamkeit auch dieser Verbindung selbst.

b) Kalbsserum.

Die in gleicher Anordnung und unter den gleichen Bedingungen angestellten Versuche mit Kalbsserum, Chlorogensäure und Komplexsalz zeigten die gleichen Ergebnisse.

c) Schweineserum.

Auch hier waren bei gleicher Durchführung der Versuche die gleichen Resultate zu verzeichnen.

Die nun auftauchende Frage war, ob diese Fällungsreaktionen mit Chlorogensäure, wie sie eben beobachtet wurden, auf Säurewirkung beruhen, oder ob es sich um eine spezifische Wirkung der Chlorogensäure handelt.

Das p_H einer Chlorogensäurelösung 1:300 beträgt nach Feststellung mit der Indikatoren-Reihe 3,2.

Ein gleiches p_H wurde für die Weinsäure, die als Säuretest verwendet wurde, bei einer Verdünnung von 1:10 000 gefunden. Der Versuch verlief folgendermaßen:

1 ccm einer 0,9 % NaCl - Lösung mit der Chlorogensäurekonzentration 1:300 $p_H = 3,2$	+ 1 ccm Serum	Reaktion: Bei Zugabe des Serums entsteht zunächst keine Trübung, nach einigen Tropfen tritt eine milchige weiß-graue Fällung auf, die nach Zugabe von 1 ccm wieder verschwunden ist.
1 ccm einer 0,9 % NaCl-Lösung mit der Weinsäurekonzentration 1:10000 $p_H = 3,2$.	+ 1 ccm Serum	Keine Reaktion.

Es zeigte sich also, daß es sich bei den Eiweißfällungen durch die Chlorogensäure, zumindest was die geringeren Konzentrationen anlangt, um eine Wirkung handelt, die nicht auf die H-Ionenkonzentration, sondern auf eine spezifische Eigenschaft der Chlorogensäure zu beziehen ist.

III. Die Beeinflussung der peptischen und tryptischen Verdauung durch Chlorogensäure, chlorogensaures Na und Komplexsalz.

a) Peptische Verdauung.

Die gesamten Verdauungsversuche wurden an frischem, mehrmals ausgewaschenem, nicht gekochtem Fibrin, das aus Rinderblut gewonnen wurde, angestellt. Als verdauendes Agens wurde eine 0,04 % Pepsinlösung, aus Trockenpepsin in einer 0,4 % HCl-Lösung, hergestellt.

Der Versuch wurde nun so angesetzt, daß jeweils 2 ccm dieser Pepsinlösung zu jeweils 2 ccm einer, die zu untersuchende Konzentration an Chlorogensäure resp. Komplexsalz enthaltenden Aqua dest.-Menge gegeben wurde, wobei dann in den nunmehr 4 ccm Flüssigkeit eine HCl-Konzentration von 0,2 % vorhanden war, die das optimale Milieu für die Pepsinwirkung darstellt. Nach Einbringen ungefähr gleicher Mengen von Fibrin wurde durch Einstellen der Reagensgläser in ein Wasserbad von 38° für gleichbleibende Temperatur während des Ablaufs der Reaktionen gesorgt. In der folgenden Tabelle sind die Beobachtungen eingezeichnet. (S. Tab. 3.)

Eine Wiederholung dieser Versuche zeitigte dieselben Resultate.

Es läßt sich also an Hand dieser Versuchsreihe eine starke Hemmung der peptischen Verdauung nachweisen durch Zusatz von Chlorogensäure, wobei die Stärke der Hemmung durchaus der Höhe der angewandten Konzentration entspricht. Die Grenzkonzentration liegt bei 1:1000. Nach Ablauf einer gewissen Zeitspanne jedoch tritt diese Hemmung mehr und mehr zurück, bis im Endeffekt nach 24 Stunden eine völlige Verdauung ohne jeden Unterschied gegen den Kontrollversuch bei allen Konzentrationshöhen eingetreten ist.

Von der Ueberlegung ausgehend, daß durch die zusätzliche Säurung der Pepsin-HCl-Lösung, wie sie durch den Zusatz von Chlorogensäure eintritt, ein für die Pepsinwirkung optimaler Säurewert überschritten sein könnte, wurden die gleichen Versuche mit neutralisierter Chlorogensäure (chlorogensaures Na), die bereits oben besprochen wurde, nochmals angesetzt.

Es konnte jedoch keinerlei Unterschied in den Resultaten festgestellt werden.

Bei den Pepsin-Komplexsalz-Verdauungsversuchen ist die Hemmung der Verdauung, die auch hierbei auftritt, eine wesentlich geringere, als bei den unter gleichen Bedingungen ausgeführten Chlorogensäureversuchen. Dabei ist besonders zu bemerken, daß die Hemmung hierbei nicht dem geringeren Chlorogensäuregehalt von 65 % im Komplexsalz entspricht, sondern daß eine ungleich geringere Hemmung hier in die Er-

scheinung tritt, was besonders bei den höheren Konzentrationen nach kürzerer Dauer des Einwirkens klar zu sehen ist. Das Hemmungsverhältnis verhält sich in den ausgeprägtesten Fällen wie 10:1. Nach einer gewissen Zeitspanne, der geringeren Hemmung entsprechend kürzer als bei der Chlorogensäure, verwischen sich auch hier die Hemmungsunterschiede und völlige Verdauung ist schließlich im Endresultat feststellbar.

b) Tryptische Verdauung.

Das Agens stellte bei diesen Versuchen eine 0,08 % Trypsinlösung dar, die durch Auflösen der entsprechenden Menge Trockentrypsins in einer 0,4 % Sodalösung hergestellt wurde, sodaß auch hier nach Zusatz der 2 ccm Aqua dest., das die zu untersuchende Chlorogensäure- resp. Komplexsalz-Konzentration enthielt, das optimale Milieu für die Trypsinwirkung hergestellt war, nämlich eine 0,2 % Sodalösung. Nach Zusatz ungefähr gleicher Fibrinmengen erfolgte auch hier das Einbringen in ein auf 38° gehaltenes Wasserbad.

Dabei wurden folgende Beobachtungen gemacht: (s. Tab. 4)

Diese Trypsinverdauungsversuche zeigen, abgesehen von der wesentlich längeren Dauer der Zeit, die bis zur Vollendung der Verdauung verstreicht, ähnliche Ergebnisse der Chlorogensäure- und Komplexsalz-Einwirkung wie die Pepsinversuche, nämlich eine starke Hemmung der Eiweißverdauung durch die Chlorogensäure und eine, in diesem Falle wohl etwas weniger starke aber trotzdem noch deutlich gegen die Chlorogensäure in die Erscheinung tretende Hemmung durch Komplexsalz. Diese Differenz in der Hemmungswirkung zwischen den beiden Substanzen wird allerdings etwas geringer, wenn auch hier wie im Pepsin-Versuch, statt der das optimale alkalische Milieu des Trypsins verändernden Chlorogensäure deren neutrales Na-Salz verwendet wird. Wenn auch in den vorangegangenen Trypsin-Chlorogensäure - Verdauungsversuchen, die wie die gleichfalls wiederholten Komplexsalzversuche zu stets den gleichen Resultaten führten, die Säurung des Trypsinmilieus resp. die Herabsetzung dessen Alkalität nie so stark war, daß sich bei Prüfung mit Lackmuspapier eine neutrale

oder gar saure Reaktion gezeigt hätte, war doch durch die Ausschaltung dieser Säurequelle, wenn auch kein prinzipieller, so doch ein leichter gradueller Unterschied in der Hemmung der Trypsin-Wirkung festzustellen.

Die Wirkung der Chlorogensäure kam also, nachdem ihre reine Säurewirkung ausgeschaltet war, fast der des Komplexsalzes gleich, welche Tatsache im Gegensatz zu den Pepsinverdauungsversuchen nochmals hervorgehoben werden soll. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß eine, wenn auch geringe, Veränderung des Trypsinmilieus dessen fermentative Wirksamkeit stärker herabsetzt als die des Pepsins.

Versuche zur Bestimmung der Grenzkonzentration ergaben eine Grenze der Wirksamkeit für die neutrale Chlorogensäure wie für das Komplexsalz von 1:5000. Geringere Konzentrationen blieben ohne Effekt.

Bei allen diesen Trypsinverdauungsversuchen, bei denen die Brenzcatechingruppe der Chlorogensäure in ein alkalisches Milieu gebracht wurde, trat eine dem Gehalt an Chlorogensäure entsprechende grüne Farbe auf, die vom Schwarzgrün bis zum Hauchgrün und zur Farblosigkeit abfiel.

IV. Die Beeinflussung der Hefegärung durch Chlorogensäure und Komplexsalz.

Die Gärung wurde an einer 4 % Traubenzuckerlösung beobachtet, der eine 20 % Hefeaufschwemmung, die, um ein optimales Milieu für die Hefezellen herzustellen und eine Schädigung derselben auszuschließen, in einer Lösung von 0,2 % $MgSO_4$ und 0,3 % KH_2PO_4 in Aqua dest. angesetzt war, zugegeben wurde. Das in den Gärröhrchen angesetzte Mengenverhältnis betrug:

2 ccm Traubenzuckerlösung,
+3 „ 20 % Hefeaufschwemmung,
+5 „ Aqua dest., welches die jeweils zu untersuchende Menge an Chlorogensäure resp. Komplexsalz enthielt.

10 ccm Gesamtinhalt der Gärröhrchen.

Der Versuch wurde bei Zimmertemperatur durchgeführt. Die Mengen des entstandenen Kohlendioxyd sind in ccm gemessen und in folgende Tabelle eingetragen: (s. Tabelle 5).

Aus diesem Versuch ergibt sich, ähnlich wie aus den Verdauungsversuchen, eine ausgesprochene Hemmung des fermentativen Gärungsvorgangs durch die Chlorogensäure und eine wesentlich geringere, wenn auch noch stark in die Erscheinung tretende Hemmung durch das Komplexsalz.

Dies ist besonders stark nach Ablauf einer kurzen Zeitspanne in dem Versuch zu beobachten. Späterhin verwischt sich dieser Unterschied in der Hemmungswirkung dieser beiden Substanzen mehr und mehr, so daß nach Ablauf von 3 Stunden kein Unterschied mehr vorhanden ist, während die Hemmung im Vergleich mit dem Kontrollversuch jedoch noch eine stark ausgeprägte ist.

Nach einer Beobachtungszeit von 24 Stunden ist außer einer geringen Zunahme der Gasmenge in sämtlichen Röhrchen eine Aenderung im Gesamtmengenverhältnis der CO_2 nicht eingetreten. Hier tritt also im Gegensatz zu den Verdauungsversuchen ein gleicher Endeffekt nicht ein, da es sich hierbei außer einer Bremswirkung auf die Fermenttätigkeit selbst noch um eine direkte Schädigung der Hefezellen handeln wird, die zu diesen verschiedenen Endresultaten führt.

V. Die Wirkung von Coff.pur., Coff.-Na-salicylic., Chlorogensäure und Komplexsalz auf den Froschmuskel.

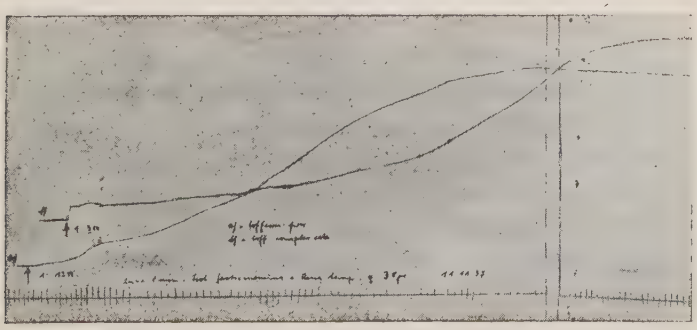
Um die Wirkung der eben angeführten Substanzen in verschiedenen Konzentrationen auf den Froschmuskel zu untersuchen, wurde folgende Versuchsanordnung gewählt, die bei sämtlichen Versuchen dieser Reihe die gleiche blieb: als Versuchsobjekt diente der isolierte m. gastrocnemius von Rana temporaria, der in jeweils 40 ccm einer Froschringerlösung eingebracht wurde, die in stets gleichbleibender Weise mit Luft durchperlt war, und die jeweilige Konzentration an Substanz enthielt. Die Längenveränderung des Muskels, — in sämtlichen Fällen handelte es sich um Kontraktionen desselben —, wurden auf den Kraftarm eines Schreibhebels in einer

Entfernung von 20 cm vom Drehpunkt übertragen, während der Lastarm des Hebels zur Verringerung des Ausschlags mit einem Gewicht von 4 g in 2 cm Entfernung vom Drehpunkt belastet wurde. Die Gesamtlänge des Lastarms betrug 5 cm. Eine Schreibspitze aus Aluminiumfolie zeichnete die Muskelveränderung auf einem Kymographion auf. Um direkte Vergleichsmöglichkeiten bei der Untersuchung zu besitzen, wurden jeweils beide mm. gastrocnemii desselben Tieres in einem Versuch angesetzt und mit den verschiedenen Konzentrationen resp. Stoffen untersucht.

Die erste Versuchsgruppe hatte als Aufgabe, die Komplexsalzwirkung auf den Muskel festzustellen und dieselbe in Beziehung zu setzen mit der Coff. pur.-Wirkung.

Die zunächst durchgeführte Bestimmung der Grenzkonzentration, die befähigt war, eine Kontraktionswirkung auf den Muskel auszuüben, ergab für das Komplexsalz eine solche von 1:500. Nach Ablauf von 3 Minuten bewirkte sie einen geringen Anstieg der Muskelkurve, der langsam sein Maximum erreichte.

Im weiteren Verlauf wurde versucht, diejenige Konzentration an Coff.pur. ausfindig zu machen, die im Stande war, einen ähnlichen Kontraktionsverlauf, zum mindesten jedoch einen gleichen Kontraktionsendeffekt hervorzubringen, wie eine Komplexsalzlösung von 1:300, die sich im Verlauf der Versuche als gut ansprechende Konzentration erwiesen hatte. Die gesuchte Konzentration an Coff.pur. wurde bei 1:1200 gefunden.



Sie zeitigt den gleichen Endeffekt, wie die Komplexsalzverdünnung von 1:300, wobei jedoch der Kurvenverlauf bei den beiden Substanzen ein verschiedener ist, insofern, als die Coffeinkurve 3 Minuten nach dem Einbringen der Lösung continuierlich ansteigt, nach 75 Minuten ihr Maximum erreicht hat, während die Komplexsalzkurve sofort nach Zusatz der Lösung eine plötzliche geringe Kontraktion erkennen läßt. Es handelt sich hier, wie sich bei den Chlorogensäurekurven später erwies, um die typische Chlorogensäurewirkung. Das Maximum dieser Initialkontraktion wird lange Zeit ohne weiteren merklichen Anstieg gehalten. Später setzt dann eine zunehmende Kontraktion ein, sodaß bei den Komplexsalzversuchen das Kontraktionsmaximum erst viel später erreicht wird (100 Min.). Der Grund hierfür ist in der allmählichen Dissoziation des Komplexsalzes gelegen, wobei Coffein langsam frei wird, um dann vom Muskel gebunden zu werden. Weiteres Coffein wird frei, erneut vom Muskel gebunden, bis die ganze Substanz zur Wirkung gekommen ist. Setzt man dieses Ergebnis in Beziehung zum Coffeingehalt des Komplexsalzes, so verhält sich

$$300:1200 = 0{,}25:1$$
$$1:4 \quad = 1:4,$$

sodaß sich der Effekt des Komplexsalzes aus seinem 25 % - Gehalt an Coff.pur. erklären läßt, während die 65 % Chlorogensäure in der Verdünnung 1:300 einem reinen Chlorogensäuregehalt von 1:450 entspräche, einer Chlorogenkonzentration, die, wie sich später erweisen wird, einen sehr geringen und der Initialkontraktion des Komplexsalzes ungefähr gleichwertigen Effekt am Muskel zeitigt.

(Bei den Versuchen, die zur Auffindung der gesuchten Coff. pur.-Konzentration gemacht wurden, zeigte sich regelmäßig bei fraktionierten Coffeingaben eine Art „Sensibilisierung" des Froschmuskels, da nach allmählicher stufenweiser Erhöhung des Coffeingehaltes der umgebenden Flüssigkeit der Muskel mit einer sofortigen, bedeutend schnelleren Kontraktion antwortete, als es der vorhandenen Konzentration entsprochen hätte.)

Vergleich mit Coffein.natriosalicylicum.

Bei den folgenden Untersuchungen sollte die Wirkung von komplex gebundenem Coffein.natriosalicylicum dargestellt werden, um die in den vorigen Versuchen festgestellte Coffein.-Kalium-Chlorogensäure-Wirkung besser analysieren zu können.

Als Vergleichsversuche liefen daneben:

1. Coff.pur. und wiederum
2. das Komplexsalz.

Bei Anwendung von Coff.pur. 1:1000 und Coff.-Na-salic. 1:400 waren in beiden Lösungen gleiche Coffeinmengen enthalten, da Coff.natriosalicylicum ca. 40 % Coffein enthält.

Coff.pur. 1:1000 ergab wiederum die kontinuierlich ansteigende, typische Kurve, die ihr Maximum bereits nach 52 Minuten erreichte.

Coff.-Na-salic. 1:400 ließ im Vergleich mit dem chlorogensauren Coffein-Kaliumsalz den plötzlichen initialen Anstieg vermissen, hielt sich 51 Min. ohne merklichen Anstieg, woran sich dann erst die kontinuierliche Kontraktion wie beim Komplexsalz anschloß. Erst nach 144 Min. erreichte sie ihr Maximum und damit den gleichen Endeffekt wie Coff.pur.

Es zeigte sich also, daß auch in der komplexen Coffein.-natriosalicyl.-Bindung das Coffein völlig zur Wirkung kommt, wenn auch zeitlich sehr verlangsamt. Auf den vorherigen Versuch übertragen heißt das, daß es sich auch dort um keine spezifische Komplexsalzwirkung handelt, sondern, mit Ausnahme der initialen Chlorogensäurewirkung, um reines Wirksamwerden des im Komplexsalz enthaltenen, allmählich hydrolytisch frei werdenden Coffeins.

Ein weiterer Beweis für diese Tatsache wurde durch den Vergleich der Wirkungen einer
Coff.-K-Chlorogensäurelösung 1:200 und einer Coff.-Na-salicyl.-Lösung 1:200 geliefert, wobei die erstere einen Gehalt von 27 % Coffein, letztere einen solchen von 40 % Coffein aufweist. Ein fast gleicher Verlauf der Kurven neben einem in der gleichen Zeit erreichten Maximum der Kontraktionen war das Ergebnis. Allerdings zeigte sich

entsprechend dem verschiedenen Gehalt an Coffein natürlich eine Differenz im Kontraktionsendeffekt.

Wirkung von Chlorogensäure auf den Muskel von rana tempor.

Im folgenden wurden die Chlorogensäurewirkungen auf den Muskel einer Untersuchung unterzogen.

Die Chlorogensäure ist imstande, kontraktionsauslösend am Muskel zu wirken, und zwar von einer Konzentration von 1:1000 ab. Eine gut ansprechende Verdünnung ist 1:400, mit der bei den Versuchen auch gearbeitet wurde. Der Verlauf einer solchen Chlorogensäurekontraktion zeigt einen plötzlichen steilen, nicht sehr starken Anstieg sofort nach Einbringen der Substanz in die Froschringerlösung und eine anschließend sehr flach verlaufende Kurve, die alsbald ihr Maximum erreicht hat.

Versuche, die Kontraktion durch Zusatz von 0,25 % Glucose in einem fördernden Sinne zu beeinflussen, wie es bei der Kontraktion durch Coff.pur. möglich ist, wie Versuche von Herrn Prof. Schübel zeigten, verliefen negativ.

Parallele Versuche mit gleichen Konzentrationen (1:400) von Chlorogensäure und Komplexsalz zeigten wiederum den langsam eintretenden, aber im Endeffekt sehr starken Erfolg des Komplexsalzes und den sehr geringen und fast sofort im Anfang auftretenden der Chlorogensäure.

Es blieb nun noch die Frage zu beantworten, welche Wirkung der Zusatz von Chlorogensäure zu einer Coffeinlösung haben wird, ohne daß es dabei zu einer Komplexsalzbildung kommt; sei es, daß dabei ein hemmender, additiver oder gar potenzierender Effekt zu verzeichnen wäre.

In den zu diesem Zweck angesetzten Versuchen wurde einmal mit einer Coff. pur. - Lösung 1:1200, zum anderen mit Coff. pur. 1:1200 + Chlorogensäure 1:400 gearbeitet. Die reinen Chlorogensäurekurven (1:400) waren dabei als Vergleichsobjekte bereits aus den vorangegangenen Versuchen vorhanden.

Es zeigte sich hierbei nun eine ausgesprochene Hemmung der Coffeinwirkung derart, daß durch Zusatz von Chlorogen-

säure zu Coffeinlösungen eine sofortige, aber im Vergleich zur Coffein-Endwirkung sehr geringe Kontraktion zustande kam, die bei weitem nicht die Stärke der Coffeinwirkung erreichte. Die durch Chlorogensäurezusatz gewonnenen Kurven ähneln reinen Chlorogensäurekurven in ihrem Aussehen außerordentlich.

Genau mit dem gleichen Ergebnis verlief ein Doppelversuch, der mit Coff.pur. 1:1200 und Coff.pur. 1:1200 + Chlorogensäure 1:720 angesetzt wurde, d.h. es wurden im zweiten Fall molekulare Gewichtsmengen von Coff.pur. und Chlorogensäure zusammengegeben, die vor ihrem Zusetzen zur Ringerlösung des Froschmuskels 24 Stunden aufeinander einwirkten.

Damit ist erwiesen, daß im Komplexsalz die hemmende Wirkung auf das Coffein keineswegs zur Geltung kommt, sondern lediglich ein verzögernder Effekt durch die Chlorogensäure auftritt, der jedoch die Coffeinwirkung im Enderfolg nicht herabsetzt.

VI. Die Wirkung von Chlorogensäure, gepufferter Chlorogensäure und Aqua plumbi auf die Rattenschwanzsehne.

Die Versuche wurden an einzelnen Fäden der Rattenschwanzsehne durchgeführt, die nach Friedberg präparatorisch vom Schwanz einer 210 g schweren ♀ Ratte gewonnen wurden, und die jeweils in einer Länge von 5 cm zu den Versuchen verwendet wurden. Die Anordnung der Apparatur und die Durchführung der Experimente war dieselbe wie bei den vorangegangenen Muskelversuchen.

Als Vergleichssubstanz wurde Plumbum subacedic. 1:50 verwendet (Komiyama), deren neutrale Reaktion eine Kontraktionswirkung durch Säurung ausschließt. Zur Vermeidung einer Fällung des Pb durch das in der Warmblüterringerlösung enthaltene Cl als $PbCl_2$ wurden diese Versuche insgesamt in Aqua dest. ausgeführt, was ohne Einfluß auf die Warmblütersehne ist, wie aus den Arbeiten von Komiyama hervorgeht.

Es wurde hierbei festgestellt, daß bei einem Versuch, der mit einer Bleiessiglösung 1:50 und mit einer im Pa-

rallelexperiment verwendeten Chlorogensäurelösung 1:300 angesetzt wurde, die mit Bleiessig behandelte Sehne eine sehr schwache Verkürzung zeigte, während die wesentlich geringere Konzentration an Chlorogensäure einen weitaus größeren, allmählich ansteigenden Kontraktionsausschlag zustande brachte. Im Gegensatz zum Bleiessigversuch, bei dem die Sehne ihre Kontraktion beibehielt, trat hier allmählich eine Dehnung der Sehne ein. Im Verlaufe von 90 Min. war diese so stark geworden, daß die Anfangslänge der unbehandelten Sehne wieder hergestellt wurde und die Sehne ohne weitere Belastung riß. Eine makroskopische Betrachtung der in der Mitte gerissenen Sehne ergab eine äußerst starke Aufquellung derselben von glasig durchsichtigem Charakter, die Sehne fühlte sich gallertig, klebrig an und war völlig unelastisch geworden.

Die Bleiessig-Sehne zeigte diese Veränderungen nicht. Die Vermutung lag nun nahe, daß es sich bei diesem ganzen Vorgang völlig oder doch zum großen Teil um eine reine Säurewirkung auf die Sehne handeln könnte, was durch den folgenden Versuch geklärt wurde. Und zwar wurde derselbe Versuch nochmals in derselben Weise durchgeführt, nur unter Ausschaltung der Säurewirkung der Chlorogensäure, was durch eine Pufferung mittels Phosphatlösung erreicht wurde.

Zur Herstellung der Pufferlösung wurden verwendet:

10,1 $Na_2HPO_4 \cdot 2\,H_2O$ (sec. Na-phosphat nach Sörensen verwittert. $Na_2HPO_4 \cdot 6\,H_2O - 4\,H_2O$),

1,36 KH_2PO_4

ad 1000,0 Aqua dest.

p_H der Pufferlösung 7,5,

p_H der Chlorogensäurelösung 3,2 (1:300).

Das p_H der Pufferlösung mit beigegebener Chlorogensäurelösung betrug 7,1. Auf diese Weise war eine Säurewirkung ausgeschlossen.

Das Ergebnis dieses Versuchs mit der gepufferten Chlorogensäure 1:300 war dem des Bleiessigver-

suchs 1:50 gleich zu setzen, also eine sehr geringe Kontraktion ohne nachfolgende Dehnung und Verquellung. Es war kein Unterschied zwischen den beiden Sehnen, sowohl im Aussehen wie in der Elastizität, feststellbar. Also ist der Großteil der Chlorogensäurewirkung bei der Veränderung der Rattenschwanzsehne auf eine ausgesprochene Säurewirkung zu beziehen und nur ein sehr geringer Teil dürfte Chlorogensäurespezifischer Natur sein.

Als weiterer Beweis für die Bedeutung, die der Säurewirkung bei der Chlorogensäure in diesem Falle zukommt, wurden Versuche mit

Chlorogensäure	1:300	$p_H = 3{,}2$
Weinsäure	1:10000	$p_H = 3{,}4$

gemacht, also zwei Substanzen verschiedener Art, die gleiche Säurewerte aufweisen.

Der Versuch verlief so, daß die Kontraktionsstärke der mit Weinsäure behandelten Sehne wohl etwas hinter der der Chlorogensäure zurückblieb, im großen und ganzen sich jedoch Verlauf und Stärke der Wirkungen gleichkamen.

VII. Die Wirkung von Coff.pur., Komplexsalz, Chlorogensäure und chlorogensaurem Na auf das isolierte Froschherz.

Die zu diesen Versuchen hergestellten Froschherzpräparate wurden von Wasserfröschen im Gewicht von 80—90 g gewonnen nach der von Straub angegebenen Methode. (Führer: Nachweis von Giften.) Das auf diese Weise hergestellte Präparat erhielt als Füllflüssigkeit jeweils 1 ccm Flüssigkeit, die dauernd gleichmäßig mit Luft durchperlt war, und sich aus 0,9 ccm Froschringerlösung und jeweils 0,1 ccm der zu untersuchenden Lösung, die der Gesamtmenge die gewünschte Konzentration gab, zusammensetzte. Das Herzpräparat arbeitete in einer feuchten Kammer, aus der ein Faden, der mittels Herzklammer an der Herzspitze befestigt war, nach unten und außen führte. Dieser übertrug die Herzmuskelkontraktionen durch einen leichten Schreibhebel. Dessen Gewicht war

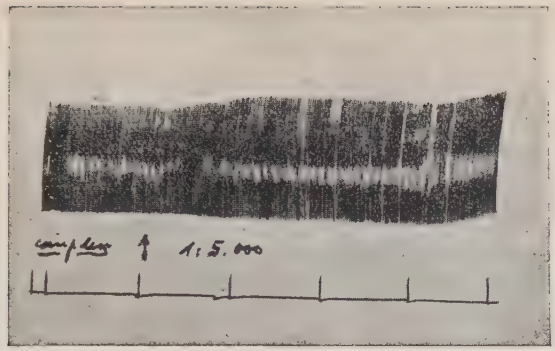
bis nahe an die Grenze des Gleichgewichts austariert, um möglichst die gesamte Kraft der Kontraktionen zur Erhöhung der Ausschläge auf den Schreibhebel auswirken zu lassen. Mittels Kymographion wurde registriert.

Im folgenden sind die charakteristischsten Versuchsergebnisse, wie sie bei Coffein, Komplexsalz, Chlorogensäure und chlorogensaurem Na beobachtet wurden, tabellarisch aufgezeichnet. (S. Tabelle 6.)

Bei der Auswertung der gemachten Beobachtungen sei kurz auf die typischen Coffeinwirkungen, wie sie bereits bekannt sind und in gleicher Weise bei den hier gemachten Untersuchungen wiederum auftraten, hingewiesen, um eine direkte Vergleichsmöglichkeit mit den Komplexsalzveränderungen zu besitzen.

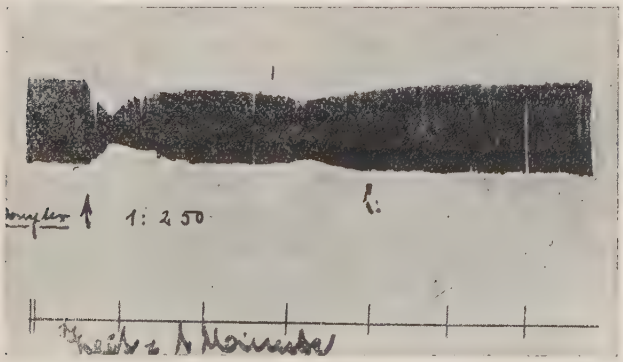
Coffein ließ bereits in der Konzentration von 1:100 000 eine minimale Zunahme der Herzkontraktionen erkennen. Mit Erhöhung der Konzentrationen wurden diese größer bis zu 1:500, was eine Leistungssteigerung von über 50 % zustande brachte und ohne Schädigung vertragen wurde. 1:250 brachte wieder eine Verdoppelung der Kontraktionshöhe zustande, zeigte aber bereits Anzeichen einer Verringerung der Diastole, ferner Tonusanstieg, der bei 1:100 zu systolischer Starre führte, die nach 5 Min. Herzstillstand bewirkte. 1:50 wurde noch 2 Min. 30 Sek. vertragen, bis nach immer stärkerem Frequenzabsinken der Stillstand eintrat. Stets war aber die Coffeinwirkung durch Auswaschen des Giftes reversibel.

Die Betrachtung der Komplexsalzwirkung ergibt, daß hierbei ein wahrnehmbarer Effekt erst bei 1:25 000 im Sinne einer minimalen Zunahme der Herzleistung, also der Kontraktionshöhe, zu verzeichnen ist. Die folgenden stärkeren Konzentrationen ergeben alle sofort nach Zugabe der entsprechenden Komplexsalzmengen eine schockartige Herabsetzung der Kontraktionshöhe für die Dauer von mehreren Schlägen. Dann erfolgt ein langsamer Anstieg, der im Vergleich mit den entsprechenden Coffeinwirkungen jedoch als sehr gering bezeichnet werden muß.



1:500 bewirkt eine Zunahme der Herzkraft um 1/3 der ursprünglichen Leistung noch ohne Schädigung desselben.

1:250 setzt bereits eine erhebliche Verminderung sowohl der systolischen Kraft wie der diastolischen Erweiterung am Herzen, von der sich das Herz jedoch im Laufe der Zeit wieder erholt, ja sogar in seiner Leistung über seine ursprünglichen Werte deutlich hinausgeht.



1:100 ist eine ausgesprochen toxische Dosis, die das Herz nach einigen Schlägen zum Stillstand in Mittelstellung bringt. Sämtliche Veränderungen sind wiederum reversibel.

Die Komplexsalzwirkungen sind auch hier, wie am Muskel bereits festgestellt wurde, auf eine nacheinander eintretende Wirkung der Chlorogensäure und des Coffeins, die durch Dissoziation des Komplexsalzes in wäßriger Lösung frei werden, zu erklären. Als erstes setzt die Chlorogensäure ihre Veränderungen, in diesem Fall, wie die Versuche mit reiner Chlorogensäure bewiesen haben, in einer Kontraktionsverminderung bestehend. Jhr folgt, stark verzögert, durch das erst allmähliche Freiwerden von Coffein aus der komplexen Bindung, die Coffeinwirkung. Diese kommt jedoch am Herzen nicht zu ihrer vollen Entfaltung, wohl durch die gleichzeitige, nebenherlaufende Chlorogensäurewirkung, die hier, nicht wie beim Muskel, wo sie gleichsinnig lief, der Coffeinwirkung entgegengerichtet ist. Das Coffein verhindert zum größten Teil die Chlorogensäurewirkung, die in Form der komplexen Verbindung erst bei 1:100 tödlich wirkt, während sie im reinen Zustand bereits bei 1:2500 Herzstillstand herbeiführt.

Im Uebrigen war das Verhalten der Chlorogensäure so, daß die ersten Wirkungen in einer geringen Abnahme der Kontraktionshöhe bestanden, die sich im Laufe von Minuten zur Norm zurückbildete. Auffallend war gleichzeitig, daß die Chlorogensäure die Neigung besitzt, Reizleitungsstörungen hervorzurufen, die sich in „Gruppenschreiben" von abwechselnd 4, 3 und 2 Kontraktionen in einer „Gruppe" zusammengefaßt, äußern. Die toxische Dosis, die wie alle voraufgegangenen Konzentrationen auswaschbar ist, liegt, wie bereits erwähnt, bei 1:2500.

Das wirksame Prinzip liegt auch hier, wie es bei den Rattenschwanzsehnenversuchen bereits beobachtet wurde, in der Säurewirkung begründet. Bei Versuchen mit neutralisierter Chlorogensäure durch Anwendung von chlorogensaurem Na war außer einer geringen Kontraktionshemmung, die jedoch erst bei 1:500 zu beobachten war und sofort wieder zurückging, nichts zu bemerken. Eine toxische Dosis ließ sich überhaupt nicht feststellen.

VIII. Vergleich von Coffein, Komplexsalz, Chlorogensäure und chlorogensaurem Natrium am isolierten Darm und Uterus des Kaninchens.

Darm wie Uterus wurden von einem 3100 g schweren Kaninchen gewonnen, und arbeiteten während der Versuche in jeweils 40 ccm einer auf 38° gehaltenen, gleichmäßig mit Luft durchperlten Tyrode-Lösung, welche die jeweilige Konzentration der zu untersuchenden Substanz enthielt.

Die Coffeinwirkung auf den Darm zeigte die bereits bekannte Zunahme der Peristaltik, ein Befund, der lediglich zu Vergleichszwecken mit den übrigen Substanzen dienen sollte.

Ein besonders charakteristisches Verhalten war beim Komplexsalz am Darm festzustellen.

Begonnen wurde mit einer Konzentration von 1:100 000 steigend bis 1:100, wobei die Verdünnungen von 1:100 000 bis 1:5000 ohne Effekt waren.

Die Konzentration 1:2500 bewirkte kurz dauernde Kontraktionsabnahme ohne Frequenzänderung.

1:1000 steigerte die Frequenz („Kontraktionsbüschel"), wobei die stufenförmig ansteigenden Kontraktionen einen immer höheren Wert erreichten als vordem. Zwischen die Kontraktionsgruppen sind „kompensatorische" Pausen geschaltet. Die Veränderungen nehmen mit steigender Konzentration zu, die Frequenz erreicht doppelte Anfangswerte.

1:250 setzt starke Schädigung. Die Frequenz bleibt erhalten, wird eher noch beschleunigt. Die Kontraktionen gehen jedoch auf ein Fünftel der ursprünglichen Werte zurück.

1:100 bringt den Darm zu sofortigem Stillstand. Ausgewaschen erreicht er schnell wieder seine normale Funktion.

Die eben beschriebene „Kontraktionszunahme" durch höhere Komplexsalzkonzentrationen stellt in Wirklichkeit nur eine vorübergehende Tonuserhöhung für die Zeit des Kontraktionsstadiums dar. In Wirklichkeit hat so die Kontraktionsstärke nicht zugenommen, sondern, auf den Durchschnitt berechnet, eher abgenommen.

Ehe eine Analyse dieser Vorgänge versucht werden kann, ist es nötig, die Chlorogensäureveränderungen am Darm festzustellen.

Diese ist in den Konzentrationen 1:100 000 bis 1:2500 durchaus unwirksam.

1:1000 läßt eine vorübergehende deutliche Kontraktionsabnahme erkennen, die sich jedoch bald wieder zur Norm erhebt. Ferner wird bei dieser Verdünnung eine leichte Frequenzverminderung bemerkbar.

1:500 läßt die bereits geschilderten Veränderungen im Sinne einer Kontraktionsminderung und Frequenzherabsetzung, hier bereits um ½ des Vorwertes, noch deutlicher werden. Die Kontraktionshöhe kehrt nicht mehr zur Norm zurück. Sie ist dauernd geschädigt.

1:250 stellt bereits die lähmende Dosis dar. Sie bewirkt alsbaldigen Stillstand der Darmbewegungen.

Eine Erklärung der Komplexsalzwirkung auf die glatte, „eigengesetzliche" Muskulatur des Darmes kann nicht ohne weiteres in der bisherigen Weise erfolgen. Sicher ist aber, daß die lähmende Wirkung der Chlorogensäure, die bei 1:250 liegt, hier gehemmt wurde und erst bei 1:100 den Darmstillstand brachte nach vorhergegangener starker Kontraktionsminderung, während die ausgesprochene Frequenzbeschleunigung wohl auf die Coffeinwirkung zu beziehen ist.

Die Erhöhung des Tonus dürfte jedoch eine spezifische Komplexsalzwirkung sein und ist nicht auf eine ihrer Komponenten zu beziehen.

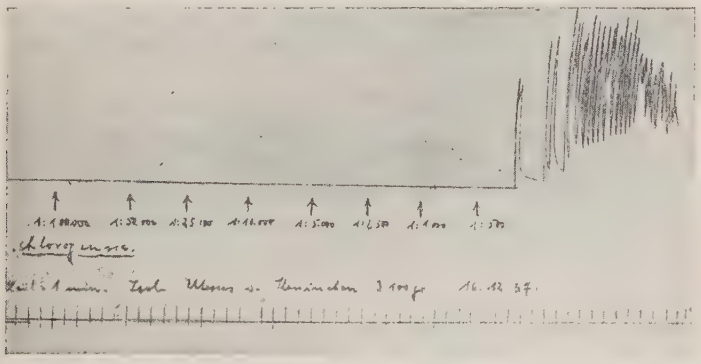
Gleichfalls im Gegensatz zu den vorangegangenen Versuchen ist hier bezüglich der Chlorogensäurewirkung festzustellen, daß es sich nicht um eine reine Säurewirkung handelt, wie die Resultate der chlorogensauren Na-Versuche am Darm zeigten. Eine Frequenzänderung fehlte hier, desgleichen lag bei dem neutralen Salz der Chlorogensäure die toxische Dosis bei höheren Konzentrationen. Vorhanden war jedoch die einwandfreie Schädigung des Darmes im Sinne einer Herabsetzung der Kontraktionsfähigkeit.

Die daran angeschlossenen Versuche an einem anderen glattmuskeligen Organ, dem Kaninchen-Uterus, von dem jeweils ein Drittel eines Hornes in 40 ccm Tyrode-Lösung bei 38° mit Luftzufuhr arbeitete, zeigten folgende Ergebnisse:

Coffein in jeglicher Konzentration von 1:100 000 bis 1:100 löste keine Kontraktionen aus. Um festzustellen, ob überhaupt ein reaktionsfähiges Präparat vorlag, wurde Suprarenin in einer Verdünnung von 1:40 000 000 bis 1:5 000 000 zugesetzt, was ohne Erfolg war. Nach Auswaschen des Präparates sprach dasselbe auf Suprarenin 1:40 000 000 mit häufigen Kontraktionen unter starker Tonussteigerung an, während in diesem Zustand ein Zusatz von Coffein 1:1000 einen sofortigen Tonusabfall und das Unterbleiben jeder Kontraktion zur Folge hatte. Es scheint also, daß Coffein dem Suprarenin entgegenwirkt.

Desgleichen erwies sich das Komplexsalz in Konzentrationen bis 1:100 auf den Uterus als unwirksam.

Dagegen erzeugte die Chlorogensäure, nachdem sie in den Verdünnungen 1:100 000 bis 1:1000 unwirksam geblieben war, bei 1:500 sehr starke, frequente Kontraktionen, die gleichzeitig mit einer deutlichen Erhöhung des Tonus einhergingen.



Dabei ist die Erregung des Uterus auf das Konto der Chlorogensäure als solcher zu buchen, während die Tonuserhöhung wohl eine Säurewirkung darstellt, was sich aus Ver-

suchen mit Na-chlorogenicum ergab. Dabei ist zu beachten, daß sofort nach Auswaschen der Chlorogensäure und des Natriumsalzes die Kontraktionen aufhören, und der durch Chlorogensäure erhöhte Tonus zur Norm abfällt. Das ausgewaschene Uruspräparat erscheint nun „sensibilisiert", denn nachfolgend ist es empfindlicher gegen Chlorogensäure und auch deren Na-salz geworden. Es können also nur Versuche am frischen, unbenützten Präparat maßgebend sein.

Es konnte gezeigt werden, daß chlorogensaures Natrium erst bei einer Konzentration von 1:250 uteruswirksam ist im Sinne einer Kontraktionsanregung von der gleichen Stärke und der gleichen Frequenz, wie es bei freier Chlorogensäure 1:500 der Fall war. Nur fehlte hier die Steigerung des Tonus.

Weitere Gaben von chlorogensaurem Natrium haben nur eine Frequenzsteigerung, jedoch keine Kontraktions- oder Tonus-Erhöhung zur Folge.

Auswaschen läßt die Kontraktionen sofort ausbleiben. Eine Schädigung des Uterus bleibt nicht zurück.

Auch hier findet sich wieder neben der reinen Säurewirkung, die allerdings am Uterus mehr in den Hintergrund tritt, eine spezifische Wirkung der Chlorogensäure. Der Grund dafür, daß diese Wirkung durch Komplexsalz nicht zu Stande kommt, ist wohl der, daß am isolierten Uterus das durch Hydrolyse freiwerdende Coffein der Chlorogensäure, ähnlich wie dem Adrenalin, entgegenwirkt.

IX. Durchströmungsversuche mit Komplexsalz und Chlorogensäure am Wasserfrosch nach Läwen-Trendelenburg.

Die Präparate für diese Versuche wurden von Wasserfröschen im Gewicht von 80—100 g nach der Methode von Läwen-Trendelenburg hergestellt. (Führer, Nachweis von Giften.) Durch Einbinden einer die zu untersuchende Substanz zuführenden Kanüle in die Bauchaorta des eventerierten Frosches und Einbinden einer abführenden Kanüle in die Bauchvene wurde Zirkulation geschaffen. Die Anzahl der den Körper des Tieres durch die Bauchvene verlassenden Tropfen

der zu untersuchenden Flüssigkeit pro Minute ist dabei der Indikator für eine evtl. Gefäßwirkung. Vorher mußte natürlich immer die Tropfenzahl mit Ringerlösung ermittelt werden.

Sämtliche Versuchsreihen, bei denen mit Konzentrationen von 1:10 000 bis 1:25 gearbeitet wurde, ließen keinerlei Gefäßveränderung erkennen, weder im Sinne einer Verengerung noch im Sinne einer Erweiterung, sowohl bei den Versuchen mit Chlorogensäure wie auch mit Komplexsalz. Die stets konstante Tropfenzahl pro min., verglichen mit dem Ringer-Vorversuch, ergab völlige Wirkungslosigkeit.

Die jeweilige Ansprechbarkeit des Präparates wurde mit Adrenalin geprüft, welches im Verhältnis 1:1 000 000 stets prompt binnen 8—10 Minuten die Tropfenfrequenz auf $^1/_7$ bis $^1/_{10}$ des Anfangswertes herabdrückte. Eine Wirkung von Chlorogensäure oder Komplexsalz auf das Froschdurchströmungspräparat ist also auszuschließen.

X. Der Einfluß von freier Chlorogensäure auf die Resorptionsgeschwindigkeit von Coffein an der Maus.

Bevor ich auf diese Untersuchungen eingehe, möchte ich auf die Ergebnisse der Versuchsreihen von Herrn Professor Schübel hinweisen, die der Feststellung der letalen Dosis von Chlorogensäure und Komplexsalz sowohl bei der Ratte als auch bei der Maus dienten.

Bei der Ratte lag die Dosis letalis für Komplexsalz bei s.c.-Verabfolgung bei 1 mg/g.

> Nach Auftreten von Starre, Trismus und Krämpfen trat der Tod nach 13 Stunden ein, während bei i.m.-Gabe derselben Menge der Tod erst nach 19 Tagen erfolgte.

Steigerung der Dosen auf 1,5 mg/g tötete nach 4 Stunden, 2 mg/g tötete nach 3 Stunden 5 Minuten.

Die letale Dosis bei peroraler Einverleibung wurde bei 1,35 bis 1,4 mg/g festgestellt. Dem Exitus durch diastolischen Herzstillstand gingen auch hier Krämpfe des Tieres voraus.

Bei der Ratte konnte eine letale Dosis für die Chlorogensäure überhaupt nicht festgestellt werden;

subcutane Gaben von

0,5 mg/g blieben ohne Effekt.

1,0 mg/g erzeugte eine Säuredyspnoe.

1,25 mg/g ließ Abszesse, Geschwüre und Nekrosen als Folge der Säurewirkung in der Umgebung der Injektionsstelle entstehen.

Perorale Gaben von

4 mg/g und selbst 5 mg/g blieben ohne Effekt.

An der Maus setzte das s.c. verabfolgte Komplexsalz folgende Veränderungen:

0,5 mg/g ließen Unruhe, spastischen Gang und klonische Krämpfe erkennen.

0,75 mg/g lösten spastische Bewegungen und Stellungen aus neben Unruhe und gesteigerter Reflexerregbarkeit. Die Dosis war bereits tödlich.

0,8 mg/g bewirkten beschleunigte und keuchende Atmung, dauernde Unruhe, Spasmen und Krämpfe mit folgendem Tod durch diastolischen Herzstillstand.

Die Chlorogensäure erwies sich also selbst in großen Mengen als ungiftig, wenn man von ihrer rein lokalen Säurewirkung bei s.c. - Gabe absieht, während die Komplexsalzwirkungen auf dessen Coffeingehalt beruhen. Dieser beträgt 27 % und löst bei den Versuchstieren die typischen Coffein-Vergiftungserscheinungen aus.

Es erhob sich nun die Frage, ob durch gleichzeitige s.c.-Gabe von Coffein.pur. und Chlorogensäure in nicht komplexer Bindung eine Beeinflussung der Resorptionsgeschwindigkeit des Coffeins auftritt, wobei in erster Linie an eine Verlangsamung derselben durch die gleichzeitige Plasmaschädigung von seiten der Chlorogensäure gedacht werden mußte.

Bei den Versuchen, die an weißen Mäusen mit einer Dosis let. min. von Coffein (0,25 mg/g) unter gleichzeitigem Zusatz von Chlorogensäure im Komplexsalzverhältnis, also 1:2,4, durchgeführt wurden, dienten ein gleichzeitig s.c. nur mit Cof-

fein behandeltes und ein unbehandeltes Tier als Vergleichsobjekte. Bei beiden injizierten Tieren zeigten sich die Coffeinvergiftungserscheinungen wie Starre, Spasmen, Krämpfe und evtl. Exitus im Krampfanfall. Es war kein deutlicher Unterschied zwischen den Spasmen und Krämpfen in Bezug auf Intensität oder zeitliches Auftreten festzustellen. Desgleichen bestanden keine größeren Zeitdifferenzen hinsichtlich des Eintritts des Todes.

Es scheint also, daß der Zusatz von Chlorogensäure zum Coffein im Verhältnis wie Komplexsalz keinen Einfluß auf die toxische oder letale Dosis von Coffein hat. Es war lediglich eine Säuredyspnoe bei Chlorogensäurezusatz, wie sie bereits zur Beobachtung gekommen war, festzustellen, die statt der Coff.pur.-Atmungsbeschleunigung auftrat.

Tabelle I.

Konzentration der Chlorogensäure in 4 ccm 0,9 % NaCl	5 % Blutaufschwemmung	Zeit 16.20	Zeit 16.25	Zeit 16.35	Zeit 16.45	Zeit 18.30	Zeit nach 2
1 : 50	1 ccm	Beginn	Diffus braun grau durchsichtig	undurchsichtig braun	status idem	diffus café au lait. Sedimentbildung	dunk braun Sedim grau Flüss
1 : 100	1 ccm	„	rotbraun durchsichtig	undurchsichtig braun	status idem	Flocken sediment. darüber hellbraune Flüssigkt.	des gleic
1 : 250	1 ccm	„	wie Kontrolle	durchsichtig braun	status idem	desgleichen	des gleic
1 : 500	1 ccm	„	wie Kontrolle	bräunlicher Ton im Rot der Lösung	durchsichtig braun	durchsichtig braun	durc sich brau
1 : 1 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	leicht brauner Ton im Rot	rotbr
1 : 2 500	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 5 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 10 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 25 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 50 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 100 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 250 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
1 : 500 000	1 ccm	„	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont
Kontrolle 4 ccm 0,9 % NaCl	1 ccm	„	keine Eiweißfällg. Haemolyse oder Methämoglobinbildung	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kontrolle	wie Kont

Tabelle II.

Konzentration der Chlorogensäure in 0,5 ccm einer 0,9 % NaCl-Lösung	Reaktionen
1 : 50	Während des Zugebens tritt eine dickweise, immer stärker werdende Eiweißfällung ein, die bestehen bleibt
1 : 100	Es tritt eine leicht milchige Trübung ein, die die bernsteinfarbene Serumflüssigkeit noch gut erkennen läßt.
1 : 250	Während des Zugebens der ersten Tropfen tritt eine Ausfällung von Eiweiß in geringem Maße ein, die jedoch bei weiterem Zusetzen von Serum wieder verschwindet, Serum klar wie dasjenige des Kontrollröhrchens
1 : 500	Keine Reaktion
1 : 1 000	„ „
1 : 2 500	„ „
1 : 5 000	„ „
1 : 10 000	„ „
1 : 25 000	„ „
1 : 50 000	„ „
1 : 100 000	„ „
1 : 250 000	„ „
1 : 500 000	„ „
0,5 ccm 0,9 % NaCl = Kontrolle	„ „

Tabelle III.

Konzentration der Chlorogensäure in 4 ccm Gesamtreagenz	0,04 % Pepsin in 0,2 % HCl	nach 30 Min.	nach 90 Min.	nach 24 Std.
1 : 100	2 ccm	zeigt ausgesprochene Hemmung der Verdauung	zur Hälfte verdaut	restlos verdaut
1 : 500	2 ccm	mäßige Hemmung	über die Hälfte verdaut	restlos verdaut
1 : 1 000	2 ccm	schwache Hemmung	fast völlig verdaut	restlos verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	2 ccm	Fibrin bis auf geringe Menge verdaut	restlos verdaut	restlos verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	—	keinerlei Veränderung	keinerlei Veränderung	keinerlei Veränderung

Konzentration des Komplexsalzes in 4 ccm Gesamtreagenz	0,04 % Pepsin in 0,2 % HCl	nach 30 Min.	nach 90 Min.	nach 24 Std.
1 : 100	2 ccm	schwache Hemmung wie Chlorogensäure 1:1000	über die Hälfte verdaut	restlos verdaut
1 : 500	2 ccm	schwache Hemmung	größtenteils verdaut	restlos verdaut
1 : 1 000	2 ccm	sehr geringe Hemmung	fast völlig verdaut	restlos verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	2 ccm	bis auf geringe Mengen verdaut	restlos verdaut	restlos verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	—	keinerlei Veränderung	keinerlei Veränderung	keinerlei Veränderung

Tabelle IV.

Konzentration der Chlorogensäure in 4 ccm Gesamtreagenz	0,08 % Trypsin in 0,2 % Sodalösung	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 24 Std.	nach 40 Std.	nach 70 Std.
1 : 100	2 ccm	keine Reaktion	keine Reaktion	leichte Quellung nichts verdaut	Starke Quellung geringer Teil verdaut	verdaut
1 : 500	2 ccm	keine Reaktion	minimale Quellung	starke Quellung $^1/_2$ verdaut	bis auf einige Schleier verdaut	verdaut
1 : 1 000	2 ccm	minimale Quellung	leichte Quellung	starke Quellung $^1/_2$ verdaut	bis auf einige Schleier verdaut	verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	2 ccm	leichte Quellung	starke Quellung	verdaut bis auf geringe Schleier	verdaut	verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	—	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

Konzentration des Komplexsalzes in 4 ccm Gesamtreagenz	0,08 % Trypsin in 0,2 % Sodalösung	nach 1 Std.	nach 2 Std.	nach 24 Std.	nach 40 Std.	nach 70 Std.
1 : 100	2 ccm	keine Reaktion	keine Reaktion	gut gequollen kaum verdaut	starke Quellung kleiner Teil verdaut	verdaut
1 : 500	2 ccm	keine Reaktion	leichte Quellung	gut gequollen kaum verdaut	verdaut bis auf einige Schleier	verdaut
1 : 1 000	2 ccm	schwache Quellung	starke Quellung	verdaut bis auf geringe Schleier	verdaut	verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	2 ccm	leichte Quellung	starke Quellung	verdaut bis auf geringe Schleier	verdaut	verdaut
Kontrolle 2 ccm Aqua dest.	—	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion	keine Reaktion

Tabelle V.

Chlorogensäure-konzentration und Komplexsalz-konzentration in 5 ccm Aqua dest.	20 % Hefe	4 % Trauben-zucker	nach 1 Std.		nach 2 Std.		nach 3 Std.	
			Chlorogen-säure	Komplex-salz	Chlorogen-säure	Komplex-salz	Chlorogen-säure	Komplex-salz
1 : 100	3 ccm	2 ccm	0,1	0,8	1,3	1,6	1,7	1,8
1 : 500	3 ccm	2 ccm	0,5	0,9	1,7	1,4	2,0	1,9
1 : 1 000	3 ccm	2 ccm	0,5	0,9	1,8	1,4	2,1	1,9
Kontrolle 5 ccm Aqua dest.	3 ccm	2 ccm	1,2		2,4		2,8	

Tabelle VI.

Coffein. pur.

Konzentration in der Füllflüssigkeit	Zeit	Frequenz pro min.	Kontraktionshöhe
Beginn	14.07	46	
1 : 100 000	14 10	46	1 ' nach Zugabe minimalste Zunahme der Kontraktionshöhe.
auswaschen	14.14	45	normale Kontraktionshöhe.
1 : 50 000	14.16	45	$^1/_2$ ' nach Zugabe minimale Zunahme der Kontraktionshöhe.
auswaschen	14.22	44	wieder normale Kontraktionshöhe.
1 : 25 000	14.25	43	$^1/_2$ ' nach Zugabe deutlich sichtbare Zunahme der Kontraktionen.
auswaschen	14.32	44	wieder normale Kontraktionshöhe.
1 : 10 000	14.35	44	$^1/_4$ ' nach Zugabe stärkere Zunahme der Kontraktionen.
auswaschen	14.45	42	wieder normale Kontraktionshöhe.
1 : 5 000	14.50	43	$^1/_6$ ' nach Zugabe noch stärkere Zunahme der Kontraktionen.
auswaschen	14.55	45	die Kontraktionshöhe geht sofort auf die normale Höhe zurück.
1 : 2 500	14.58	44	$^1/_{10}$ ' nach Zugabe Erhöhung der Kontraktionen um $^1/_3$ der ursprünglichen Höhe.
auswaschen	15.03	45	promptes Absinken etwas unter die Norm.
1 : 1 000	15.05	44	sofort nach Zugabe Erhöhung der Kontraktionen um die Hälfte.
auswaschen	15.10	44	promptes Absinken zur Norm.
1 : 500	15.15	44	sofortige Zunahme um etwas über die Hälfte der ursprünglichen Kontraktionshöhe.
auswaschen	15.20	44	Zurücksinken etwas unter die Norm.
1 : 250	15.23	43	die Kontraktionshöhe verdoppelt sich ohne die geringste Schädigung.
auswaschen	15.30	40	ursprüngliche Kontraktionshöhe. Keine Schädigung.
1 : 100	15.33	39 18 —	Kontraktionshöhe verdoppelt. Dann Zurückgehen. Nach 5 ' Stillstand in Systole.
auswaschen	15.42	39	prompte Erholung
1 : 50	15.45	39 18 9 —	Kontraktionen sofort geringer. Nach 2 ' Stillstand in Systole.
auswaschen	15.52	39	prompte Erholung.

Tabelle VII.

Komplexsalz.

Konzentration in der Füllflüssigkeit	Zeit	Frequenz pro Min.	Kontraktionshöhe	Tonusverhalten
Beginn	17.30	66	—	—
1 : 100 000	17.38	66	—	—
auswaschen	17.43	67	—	—
1 : 50 000	17.45	68	—	—
auswaschen	17.50	65	—	—
1 : 25 000	17.55	63	minimale Zunahme.	—
auswaschen	18.03	61	zurück zur Norm.	—
1 : 10 000	18.12	60	sofort nach Zugabe einige Schläge lang geringes Sinken, dann geringes Steigen.	—
auswaschen	18.20	60	zurück zur Norm.	—
1 : 5 000	18.25	60	sofortiges geringes Absinken, dann deutliches Steigen	—
auswaschen	18.35	60	geringes Sinken unter die Norm.	—
1 : 2 500	18.45	60	wie 1 : 5 000	—
auswaschen	18.50	60	sinken zur Norm.	—
1 : 1 000	18.55	60	deutliches Sinken mit anschliess. Zunahme	Für die Zeit des Kontraktionssinkens +
auswaschen	19.00	60	zurück zur Norm.	—
1 : 500	19.05	60	nach stärkerem Absinken Zunahme um $^1/_3$ der ursprünglichen Höhe.	gering erhöht während der Kontraktionsabnahme.
auswaschen	19.10	60	zurück zur Norm.	—
1 : 250	19.12	49	ausgesprochene Schädigung, stärkste Abnahme, langsames Erholen bis zu geringfügiger Zunahme.	während der Kontraktionsabnahme sehr starke Zunahme. Taille!
auswaschen	19.17	58	zurück zur Norm.	—
1 : 100	19.20	—	sofortiger Stillstand in Mittelstellung.	Mittelstellung.
auswaschen	19.27	50	allmähliches Erholen. Rückkehr zur Norm.	—

Tabelle VIII.

Chlorogensäure.

Konzentration in der Pumpflüssigkeit	Zeit	Frequenz pro Min.	Kontraktionshöhe	Rhythmus	Tonus
Beginn	16.10	64	—	—	—
1:100 000	16.16	64	—	—	—
auswaschen	16.21	64	—	—	—
1:50 000	16.23	64	—	—	—
auswaschen	16.30	64	—	—	—
1:25 000	16.32	62	—	—	—
auswaschen	16.37	60	—	—	—
1:10 000	16.39	60	—	4er+3erGruppenschreiben nach 5′	—
auswaschen	16.45	60	—	normal.	—
1 7 500	16.50	60 2′ 38	Geringe Abnahme. Nach 2′ geringes Steigen üb. die Norm.	3er+2erGruppenschreiben nach 2′	—
auswaschen	16.55	56	normal.	normal.	—
1:6 000	17.00	52 5′ 32	deutliche Abnahme. Nach 5′ Zunahme. Ursprüngliche Höhe wird nicht erreicht.	3er+2erGruppenschreiben nach 5′	—
auswaschen	17.10	56	zurück zur Norm.	normal.	—
1:5 000	17.13	54 2′30″ 36	stärkere Abnahme. Nach 2′ 30″ Besserung bis zur Norm.	3er + 2er Gruppenschreiben nach 2′ 30″.	—
auswaschen	17.18	54	normal.	normal.	—
1:4 000	17.20	54 1′ 28	Abnahme um $^1/_3$! Nach 1′ Rückkehr zur Norm.	2er Gruppen, dann regelmäßig. Auf $^1/_2$.	geringer Anstieg.
auswaschen	17.25	52	normal.	normal.	normal.
1:2 500	17.30	52 25 —	sofortiges Näherrücken der Fuß- und Gipfelpunkte. Nach 1′ Stillstand in Diastole.	regelmäßig. $^1/_2$ der Norm. Stillstand.	starker Anstieg bis zum Stillstand.
auswaschen	17.35	52	völlig normal.	normal.	normal.
1:1 000	17.40	—	Absinken der Kontraktionshöhe und Stillstand.	Stillstand.	Diastole.
auswaschen	17.45	allmähliche Erholung.		normal.	normal.

Tabelle IX.

Natrium chlorogenicum.

Konzentration in der Pumpflüssigkeit	Zeit	Frequenz pro Min.	Kontraktionshöhe
Beginn	16.30	48	—
Alle Konzentrationen von 1:100 000 bis 1:1 000 sind völlig unwirksam.	16.35 bis 17.50	48 49 50	—
auswaschen	17.55	50	—
1:500	18.05	48	nach minimalem momentanem Sinken deutlicheres Steigen über die Norm.
auswaschen	18.10	49	normal.
1:250	18.20	49	nach geringem, schokartigem Sinken deutlicheres Steigen über die Norm.
auswaschen	18.29	48	normal.
1:100	18.35	48	geringes Sinken, dann geringe Zunahme.
auswaschen	18.45	46	normal.
1:50	18.50	46	geringes Sinken, ganz geringer Anstieg.
auswaschen	18.59	46	normal.

Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse.

Chlorogensäure verwandelt bis zu einer Konzentration von 1:1000 das Haemoglobin der Blutkörperchen von Rind, Kalb und Schwein in Methaemoglobin.

Das Kalium-Coffein-Chlorogensäure-Komplexsalz dagegen ist ohne Wirkung auf den Blutfarbstoff.

Das Serumeiweiß von Rind, Kalb und Schwein wird durch Chlorogensäure in Konzentrationen von 1:50 bis 1:100 irreversibel gefällt. Im Mengenverhältnis 1:250 tritt reversible Fällung ein.

Komplexsalz fällt Serumeiweiß nicht.

Chlorogensäure verzögert die Salzsäure-Pepsin-Verdauung erheblich, ebenso das chlorogensaure Natrium bis zu einer Konzentration von 1:1000.

Das Komplexsalz ist schwächer wirksam und läßt eine etwa zehnmal geringere Verzögerung eintreten.

Die tryptische Verdauung wird durch Chlorogensäure wie durch ihr Kalium-Coffein-Komplexsalz in gleichem Maße stark gehemmt. Die wirksame Grenzkonzentration beträgt 1:5000.

Die Hefegärung wird durch Chlorogensäure 1:100 bis 1:1000 ausgesprochen gehemmt, wesentlich weniger durch das Komplexsalz.

Chlorogensäure bewirkt am Froschmuskel bis zu einer Grenzkonzentration von 1:1000 eine mäßige Kontraktion. Eine Konzentration von Komplexsalz 1:300 hat denselben Endeffekt wie eine Coffeinlösung 1:1200. Das Komplexsalz wirkt jedoch langsamer als äquivalente Mengen Coffein.

Durch Chlorogensäure wird die Rattenschwanzsehne zunächst verkürzt, dann tritt Quellung, Dehnung und Zerreißung ein. Es handelt sich um eine reine Säurewirkung, nicht um Adstringierung wie bei Bleiacetat.

Freie Chlorogensäure 1:25 000 setzt am isolierten Froschherzen Rhythmusstörungen und bei 1:7500 und 1:6000 vor-

übergehende Kontraktionshemmung, dann Reizleitungsstörungen. Bei 1:2500 erfolgt diastolischer Herzstillstand. Es handelt sich zweifellos um Säurewirkung, die sich durch Auswaschen mit Ringerlösung glatt beseitigen läßt.

Das Komplexsalz hat bei 1:25 000 bis 1:1000 eine fördernde, dann bei 1:500 bis 1:100 eine schädigende Herzwirkung. Herzstillstand tritt bei einer Konzentration von 1:100 ein. Das Kalium-Coffein-Komplexsalz läßt sich auswaschen.

Chlorogensäure 1:1000 wirkt am isolierten Kaninchendarm im Sinne einer mäßigen Tonussteigerung und leichten Frequenzverminderung. 1:250 stellt die lähmende Konzentration dar. Es handelt sich dabei um eine spezifische Wirkung der Chlorogensäure.

Das Natriumsalz der Chlorogensäure hat bei 1:5000 eine schädigende Wirkung auf die Intensität der Darmkontraktionen.

Das Komplexsalz 1:2500 bewirkt kurzdauernde Kontraktionsabnahme. Bei 1:1000 erfolgen die Kontraktionen in Gruppen, wobei die Hubhöhe zunimmt. 1:100 bringt sofortigen Stillstand, d. h. Lähmung des Darmes.

Am isolierten Kaninchenuterus wirkt Chlorogensäure bei 1:500 stark kontraktionserzeugend (spezifische Wirkung) und tonuserhöhend (Säurewirkung).

Das Natriumsalz wirkt bei gleicher Konzentration nur kontraktionserzeugend.

Das Komplexsalz erwies sich als unwirksam.

Die Suprareninkontraktion am Uterus (1:40 000 000) wird durch Coffein 1:1000 gelöst.

Am Froschdurchströmungspräparat nach Läwen-Trendelenburg hatten Chlorogensäure und Komplexsalz keine Wirkung.

Der Zusatz von Chlorogensäure zur toxischen oder letalen Coffeindosis für Mäuse hatte keinerlei Einfluß auf die Resorptionsgeschwindigkeit des Coffeins.

Schrifttumsnachweis.

Biochemisches Handlexikon. 11. Band. S. 465.

Dekker, De Looistoffen. 2. S. 72. 1809.

Dyckerhoff, Hans. München.

Behandlung von Kaffeebohnen.

Englisches Patent 394 621 vom 21. 2. 1933.
ausgegeben am 20. 7. 1933.

Rohkaffeebehandlung.

Amerikanisches Patent 2 089 116 vom 7. 4. 1933,
ausgegeben am 3. 8. 1937.

Entfernen von schädlichen Bestandteilen aus dem Kaffee.

Schwedisches Patent 89 891 vom 17. 2. 1933,
ausgegeben am 31. 8. 1937.

Ebinger, E. Spielt die Veränderung der Chlorogensäure im Kaffee eine Rolle?
Pharmaz. Zentralhalle Deutschland. 73. S. 84—86. 1932. Baden-Baden.

Freudenberg, Karl. Ueber Gerbstoffe. Chlorogensäure, der gerbstoffartige Bestandteil der Kaffeebohnen.
Bericht. Dtsch. Chem. Gesellschaft. 53. S. 232—239. 14/2. 1920. Kiel. Chem. Institut der Universität.

— Darstellung der Chlorogensäure.
Bericht. Dtsch. Chem. Gesellsch. 53. S. 232. 1910.

Fischer, Hermann O. L. und

Dangschat, Gerda. Konstitution der Chlorogensäure. Bericht. Dtsch. Chem. Ges. 65. S. 1037—1040. 8./6. 1932 Berlin. Universität.

Führer, H. Nachweis von Giften auf pharmakologischem Wege.
Gärversuche S. 438.
Coffein-Nachweis am isolierten Froschmuskel S. 545.
Das isolierte Froschherz S. 552.
Gefäßpräparat nach Läwen-Trendelenburg S. 576.

Goldowski, A. und

Boshenko, A. Ueber die wasserlöslichen organischen Säuren der Sonnenblumensamen. Oel- und Fett-Industrie. (Masloboino-shirowoje Djelo) 9. Nr. 1. S. 13—20. 1933.

Gorter, K. Beiträge zur Kenntnis des Kaffees.
Bull. du Département de l'agricult. aux Indes Néerlandaises Nr. 15. 1907. 62 Seiten. Liebigs Ann. 358. S. 327—348.

— Ueber die Verbreitung der Chlorogensäure in der Natur.
Buitenzorg. Java. Archiv d. Pharm. 247. S. 184—196. 19/6. 1909.

— Ueber die Igasursäure.
Buitensorg. Java. Archiv d. Pharm. 247. S. 197—200. 19/6. 1909.

— Die Strukturformel der Chlorogensäure.
Buitensorg. Java. Labor. f. Kaffee am Département f. Landwirtschaft. Liebigs Ann. 379. S. 110—130. 2/2. 1911.

Griebel, Ueber den Kaffeegerbstoff. Inaug.Diss. München. 1903.

Heubner, W. Arch. f. exp. Path. u. Pharm. 72. S. 239. 1913.

Hoepfner, W. Chlorogensäure in mit Wasserdampf behandeltem Kaffee. Ztschr. Unters.Lebensmittel 64. S. 173—175. 7./8. 1932. Hamburg.

— Farbe und Chlorogensäuregehalt der Kaffeebohne beim Rösten. Ztschr. Unters. Lebensmittel 70. S. 112—117. 7. 1935. Hamburg.

Jurany, H. Bestimmung der Chlorogensäure im Rohkaffee. Z. analyt. Chemie 94. S. 225—232. 26./9. 1933. Bremen. Chem. Staatslaboratorium.

Koenig, P. und

Dörr, W. Ueber Tabakchemie. Biochem. Z. 263. S. 295—301. 1/8. 1933, Tabakforsch.Inst. Forchheim b. Kr.

Kochmann, M., Halle. Kann die Chlorogensäure im Kaffee Giftwirkungen entfalten? Med. Welt. 1934. 17. S. 577—578.

Lendrich, K. D.R.P. 576 515.

Nierenstein, M. Fortschritte der Gerbstoffchemie. Chem.-Ztg. 34. 625—626. 16/6. 1910. Bristol.

Oparin, A. und

Rogowin, S. Zur Kenntnis der Natur der Baumwollpigmente. Melliands Textilber. 11. S. 944—946. 12. 1930. Moskau.

Payen, Ann. d. Chemie. 26. S. 108. 1849.

Plücker, W. und

Keilholz, W. Zschr. f. Unters. d. Nahrungsmittel. 66. S. 200. 1933.

Politis, Jean. Ueber die Vergrünung des Dekoktes einiger Pflanzen und über die Gegenwart der Chlorogensäure in diesen Pflanzen. Praktika 7. S. 249—253. 1932.

Seel. Zur Pharmakodynamik einiger Bestandteile des Kaffees. Med. Welt 1935. 40. S. 1422.

v. Vorkampf-Laue. Beiträge zur Kenntnis des Methaemoglobins und seiner Derivate. Diss. Dorpat. 1892.

Wedekind, C. H. Ueber Wirkung und Nebenwirkung des Kaffeegenusses. Med. Welt 1932. 36. S. 1283.

Wittstein. Handwörterbuch der Pharmakognosie. 1882. S. 358.

Am Schlusse meiner Arbeit angelangt, möchte ich mir erlauben, Herrn Prof. Dr. Schübel für die freundliche Ueberlassung dieses Themas und seine mir gütigst gegebenen Ratschläge meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Lebenslauf.

Ich wurde am 15. Juli 1914 zu Wiesbaden als Sohn des Oberingenieurs Fritz Meiß und seiner Ehefrau Elfriede geb. Münzer geboren. Meiner Schulpflicht genügte ich wie folgt: 1½ Jahre besuchte ich die Vorschule der Oberrealschule in Wiesbaden, und 1½ Jahre die des Ludwigsgymnasiums in Saarbrücken. In derselben Anstalt trat ich in die Sexta ein und legte im März 1933 das Abiturium ab.

Am 1. Mai 1933 begann ich mein medizinisches Universitätsstudium in Freiburg i. Br., wo ich nach Ablauf von zwei Semestern das Vor-Physicum und nach weiteren drei Semestern das Physicum mit der Gesamtnote „gut" ablegte. Nach einem klinischen Studium von zwei Semestern in München und weiteren vier Semestern in Erlangen unterzog ich mich an letzterer Universität dem medizinischen Staatsexamen, das ich mit der Gesamtnote „sehr gut" abschloß.